AKTIVES ENHANCEMENT DER HUNDELEBER–TRANSPLANTATE MIT POLYSPEZIFISCHEM ANTIGEN

INAUGURAL–DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von

Klaus STECHERT
aus Dormagen

Bonn 1979

AKTIVES ENHANCEMENT DER HUNDELEBER–TRANSPLANTATE MIT POLYSPEZIFISCHEM ANTIGEN

INAUGURAL–DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von

Klaus STECHERT

aus Dormagen

B o n n 1979

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. T.S. Lie

2. Gutachter: Prof. Dr. W.K. Lelbach

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. F. Stelzner

Druck: Dissertationsdruck M. Wehle, Hauptstr. 240
5305 Witterschlick/Bonn Tel. 02221/641113

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Für Rita und meine Eltern

Inhalt

		Seite
1.	Einleitung	5
1.1.	Historischer Rückblick	5
1.2.	Allgemeine Transplantationsimmunologie	6
1.2.1.	Grundlagen	6
1.2.2.	Unspezifische Maßnahmen gegen die Transplantatabstoßung	7
1.2.2.1.	Histokompatibilitätstestung	7
1.2.2.2.	Unspezifische Immunsuppressiva	8
1.3.	Spezifische Immunsuppression durch immunologisches Enhancement	11
1.3.1.	Geschichte des immunologischen Enhancements	11
1.3.2.	Mechanismen und Funktion des immunologischen Enhancements	13
1.3.3.	Enhancement hervorrufende Antikörper	13
1.3.4.	Aktive und passive Immunisierung	14
1.3.5.	Afferente, centrale und efferente Hemmung	15
1.3.6.	Möglichkeiten und Bedingungen der Enhancementinduktion	18
1.3.7.	Spezifität und Wirkungsweise der Enhancement-Antikörper	20
1.3.8.	Problemstellung	25
2.	Material und Methoden	26
2.1.	Herstellung des Antigens	26
2.2.	Die Versuchsgruppen	26
2.3.	Operationsdurchführung	27
2.4.	Untersuchungsmethoden	30
3.	Ergebnisse	37
4.	Diskussion	41
5.	Zusammenfassung	46
6.	Tabellen und Abbildungen	48
7.	Literatur	55

1. Einleitung

Die Chirurgie als praktische Grundlage verbunden mit der Immunologie als unbedingte theoretische Voraussetzung sind die beiden Teilgebiete der Medizin, die erfolgreiche Organtransplantationen möglich machen.
Die chirurgische Technik beherrscht man schon seit Jahrzehnten. Das immunologische Phänomen der Abstoßungsreaktion bis in die letzten Details zu erklären und Wege zu suchen, sie zu verhindern, wird weiterhin Aufgabe der medizinischen Forschung bleiben.

1.1. Historischer Rückblick

Organtransplantationen wurden mit der Entwicklung der dazu notwendigen Technik, der Gefäßchirurgie, am Ende des 19. Jahrhunderts möglich.
Die ersten Nierentransplantationen wurden kurz nach 1900 durchgeführt. So transplantierte Emmerich Ullmann erstmalig 1902 in Wien erfolgreich Hundenieren.
Ehrlich führte 1906 bei sogenannten Zick-Zack-Transplantationen von Tumoren an Mäusen das Absterben der Transplantate darauf zurück, daß für den ursprünglichen Wirt spezifische Nahrungsfaktoren beim fremden Wirt fehlten, und bezeichnete dieses Phänomen als Athrepsie. (24)
Die Hypothese der Immunität wurde erstmals 1908 von den in England in der Tumorforschung arbeitenden Bashford, Murray und Haaland aufgestellt. (6)
Alexis Carrel machte die ersten Versuche auf dem Gebiet der Herz-, Milz- und Schilddrüsentransplantationen und erhielt dafür 1912 den Nobelpreis.
J.B. Murphy erkannte die Bedeutung der lymphoiden Zellen für die Abstoßung des Transplantates 1914. (75)
1920 fand Little, daß nur Transplantate innerhalb desselben Inzuchtstammes überleben. (60)
Medawar maß 1944 der beschleunigten Abstoßung von Zweittransplantaten desselben Spenders die gebührende Bedeutung bei.

Er wies schließlich in ebenso exakten wie eleganten Experimenten das verschiedene Verhalten von Auto- und Homotransplantaten sowie die "second set reaction" nach. (64)
Einen wichtigen Antrieb erhielt die Transplantationsforschung 1955 durch die Serie klinischer Nierentransplantationen zwischen eineiigen Zwillingen durch Murray und Merill in Boston. (76)
Die Erfolge dieser Pionierleistung stimulierte die Suche nach Mitteln und Wegen, um Organtransplantationen auch zwischen genetisch nicht identischen Partnern zu ermöglichen.

1.2. Allgemeine Transplantationsimmunologie

1.2.1. Grundlagen

Transplantation ist das Einbringen von fremden Zellen, Geweben oder Organen in einen anderen Organismus. Jedes Individuum besitzt in seinen Zellen und Geweben eine streng spezifische, genetisch determinierte Antigenzusammensetzung (Transplantations- oder Histokompatibilitäts-Antigene), gegen die es selbst tolerant ist, die jedoch von einem anderen Organismus als fremd empfunden wird. (23)
Das Schicksal eines Transplantates hängt vom Grad der genetischen Verwandtschaft zwischen Spender und Empfänger ab.
Gegen Transplantationsantigene des Spenders, die dem Empfänger fehlen, setzt eine Immunreaktion ein.
Die Überlebenszeit des Transplantates verkürzt sich im allgemeinen in dem Maße, in dem die Anzahl der zwischen Spender und Empfänger inkompatiblen Antigene ansteigt.
Die Schnelligkeit der Abstoßung hängt auch davon ab, ob das Fremdgewebe zum erstenmal mit dem Empfängerorganismus in Kontakt tritt (first set reaction) oder ob durch erneuten Kontakt mit Fremdgewebe vom selben Spender, einige Zeit später, der Organismus bereits sensibilisiert ist (second set reaction). In dem Fall erfolgt die Abstoßung bereits nach sechs bis acht Tagen.

Die Transplantatabstoßung wird in erster Linie durch spezifisch antigenresponsive Lymphozyten hervorgerufen (immunkompetente T-Zellen), die in das Transplantat einwandern. Dort transformieren sie sich nach antigenischer Stimulation in große pyroninophile Zellen, und durch die anschließenden Proliferationsvorgänge bilden sie ein Klon spezifisch sensibilisierter kleiner Lymphozyten. Diese Effektorzellen tragen im Verein mit aktivierten, an sich nicht spezifischen sensibilisierten Lymphozyten und Makrophagen entweder durch direkten Kontakt (sog. killer cells) oder durch Bildung cytotoxischer Faktoren an der Zerstörung des Transplantationsgewebes bei. Daneben werden jedoch offensichtlich auch humorale Antikörper gebildet, die unter bestimmten Bedingungen bei Organtransplantationen eine Bedeutung erlangen können: z.B. perakute Abstoßung von Nierentransplantaten durch präexistente Antikörper infolge Sensibilisierung durch vorausgegangene Bluttransfusionen, Geburten etc. (23)
Vom immunbiologischen Standpunkt gesehen, dienen derartige Reaktionen letztlich dem Schutz und der Erhaltung der somatischen Individualität. Unter dem Blickwinkel der in der modernen Medizin zunehmend als therapeutische Maßnahme gedachten Übertragung von fremden Geweben und Organen gewinnt jedoch die Transplantatabstoßung die Bedeutung eines pathogenen Immunphänomens.

1.2.2. Unspezifische Maßnahmen gegen die Transplantatabstoßung

Die Versuche der Transplantationsimmunologie, die für das Transplantat und den Empfänger deletären Immunvorgänge als unerwünschte Nebenwirkungen zu unterdrücken, konzentrieren sich im wesentlichen auf folgende drei Methoden:

1.2.2.1. Histokompatibilitätstestung

Die genetische Differenz zwischen Empfänger und prospektivem Spender wird in erster Linie versucht, durch folgende Testverfahren möglichst gering zu halten: Histokompatibilitätstestung mittels gemischter Lymphozytenkultur (mixed-lymphozyt-culture)

= MLC oder durch die weniger aufwendige HLA-Typisierung, bei der Transplantationsantigene durch ihre Reaktion mit cytotoxischen Antikörpern erkannt werden.

1.2.2.2. Unspezifische Immunsuppressiva

Da wegen des starken Polymorphismus der Histokompatibilität nur selten oder gar nicht eine völlige Übereinstimmung der Transplantationsantigene vom Spender und Empfänger zu erzielen ist, muß versucht werden, die immunologischen Vorgänge bei der Transplantatabwehr so zu unterdrücken, daß das Fremdgewebe dennoch toleriert wird.
Für die Herbeiführung der Transplantationstoleranz stehen heute eine Reihe unspezifischer immunsuppressiver Maßnahmen zur Verfügung. Zur sicheren dauerhaften Unterdrückung müssen die Substanzen langfristig, in der Regel lebenslänglich, gegeben werden, und zwar in je höherer Dosierung, desto größer die genetische Differenz zwischen Spender und Empfänger ist. Zahlreiche Mittel können dafür eingesetzt werden (Gabrielsen und Good)(31); die folgenden gehören zu den wichtigsten:
Antiproliferativ wirkende Agentien der Tumortherapie, wie die in den fünfziger Jahren im Vordergrund gestandenen ionisierenden Strahlen oder die nach Entdeckung ihrer Wirksamkeit in den Vordergrund getretenen Antimetaboliten (z.B. Methrotrexat, Azathioprin) und alkylierende Substanzen (z.B. Cyclophosphamid). Ferner werden Kortikosteroide im großen Umfang eingesetzt. Daneben haben Antilymphozytenseren in der letzten Zeit besondere Bedeutung erlangt.
Die Brauchbarkeit der heterologen, das heißt durch Immunisierung einer anderen Spezies gewonnenen Antilymphozytenseren erkannt zu haben, ist vor allem das Verdienst von Woodruff und Anderson. (103)
Die Antilymphozytenseren sind nicht frei von immunologischen Nebenwirkungen, die ihre Anwendbarkeit zeitlich begrenzen. Einmal wirken sie als Fremdeiweiß-Antigen (worauf die beobachtete anaphylaktische Reaktion zurückzuführen ist), was Land et al. (50) durch Toleranzinduktion gegenüber den Immunoglobulinen zu verhindern suchten.

Zum zweiten ist hervorzuheben, daß die Antikörper der Antilymphozytenseren keineswegs zellartspezifisch wirken.
Trotz der unbestreitbar großen klinischen Erfolge bei Nierentransplantationen ist das Verfahren der unspezifischen Abstoßungshemmung ein biologisch unbefriedigender Notbehelf, denn die allgemeinen Nebenwirkungen der Immunsuppressiva sind:

a) Hemmung der lebensnotwendigen Infektabwehr; daher die Sorge um unbeherrschbare Infekte durch antibiotika-resistente Bakterien, Viren und Pilze als wichtigste Todesursache nach Transplantationen;

b) kumulierende toxische Nebenwirkungen;

c) tumorfördernde Nebenwirkungen. (73)

Tabelle: 1 (89)

Komplikationen immunsuppressiver Therapie mit zytostatischen Substanzen

1. Knochenmarksschädigungen (Granulozytopoese und Lymphozytopoese, Thrombozytopoese, Erythrozytopoese)
2. Infektionen
3. Hepatotoxizität
4. Nephrotoxizität
5. Schädigung rasch proliferierender Gewebe
6. Onkogenität
7. Teratogenität

Das Vorhandensein von tumorspezifischen Antigenen wurde bisher bei einer Vielzahl durch chemische karzinogene oder onkogene Viren hervorgerufenen experimentiellen Tumoren und Leukämien nachgewiesen, ebenso bei spontan auftretenden Geschwulsten. Antilymphozytenserum hemmt die Wirkung von Interferon, das normalerweise die Aktivität onkogener Viren beschränken könnte. Zudem wurde gefunden, daß Antilymphozytenserum einen mitogenen Einfluß auf ruhende Tumorzellen hat. Der Wirkungsmechanismus von Antilymphozytenserum ist aber nicht in allen Einzelheiten

bekannt. Medawar und Levey konnten zwar nachweisen (66), daß Antilymphozytenserum die Lymphozyten überzieht; ebenso stellten sie aber auch klar, daß dies nicht der entscheidende immunsuppressive Mechanismus ist.
15 Minuten nach einer intravenösen Antilymphozytenserum-Injektion läßt sich schon der lymphopenische Effekt nachweisen, von dem Woodruff (104) aber bestritt, daß er in einem quantitativen Zusammenhang mit der Ausprägung der Immunsuppression stehe. Floersheim dagegen behauptete (29), daß die Mehrzahl der Untersuchungen auf eine Korrelation zwischen der durch Antilymphozytenserum stimulierten Lymphopenie und der Hemmung der Abstoßung nachzuweisen sei.
Wahrscheinlich ist aber der entscheidende Faktor weniger die Zahl der kreisenden Lymphozyten im Empfängerorganismus als eher deren immunologischer Typ.
Wie oben schon erwähnt, sind Antilymphozytenseren nicht ausschließlich lymphozytenspezifisch, sondern speziesspezifisch. Levey (51) wies nach, daß die Antilymphozytenseren nicht nur auf die zelluläre Immunreaktion wirken und im Prinzip einer neonatalen Thymektomie gleichkommen (49), sondern auch eine Beeinträchtigung bestimmter humoraler Immunprozesse verursachen, und zwar solche, die sich auf thymusabhängige Antigene beziehen. Zwar sind Antilymphozytenseren oder auch -globulin deutlich besser verträglich als die bisher gebrauchten Immunsuppressiva, aber sie bergen als unspezifische Immunsuppressiva immer noch die oben in Tabelle 1 geschilderten Gefahren in sich.
Ebenso ist praktisch wichtig, daß bei immunosupprimierten Empfängern von Transplantaten vermehrt primäre Tumore auftreten. Für Patienten unter vierzig Jahren lag die Tumorincidität im April 1969 achtmal über jener der Normalbevölkerung. Bei 3700 Patienten, die bis August 1970 Nierenhomotransplantate empfangen hatten, wurden 40 Malignome festgestellt. Da sie im Durchschnitt 2 1/2 Jahre nach der Transplantation auftraten, wäre die Tumorrate ohne den frühzeitigen Tod eines Teiles der Transplantatenempfänger wohl noch höher. Es fällt auf, daß über die Hälfte der de novo aufgetretenen Tumoren vom lymphoiden System

der Patienten ausgehen. Retikulumzellsarkome stehen im Vordergrund; die Häufigkeit übertrifft jene bei der Normalbevölkerung um das 50-fache (29).

1.3. Spezifische Immunsuppression durch immunologisches Enhancement

1.3.1. Geschichte des immunologischen Enhancements

Das Phänomen des immunologischen Enhancements (engl. Steigerung, Erhöhung, Vergrößerung) wurde erstmalig 1907 von Flexner und Jobling (28) beschrieben: Transplantierte Sarkome wuchsen dann in Ratten besser, wenn die Empfänger mit einer hitzeabgetöteten Tumorzellenemulsion vorbehandelt worden waren.
1933 erkannte Casey (16) die immunologischen Zusammenhänge dieses Phänomens: das Tumortransplantat wurde in seinem Wachstum nur gefördert, wenn die verabreichte Zellemulsion vom gleichen Spender wie der Tumor stammte. In dieser Veröffentlichung tauchte zum erstenmal der Begriff "Enhancement" auf, obwohl Casey seine Beobachtung noch 1949 (17) durch die Wirkweise eines angenommenen XYZ-Faktors erklärte.
In den fünfziger Jahren konnte die immunologische Natur des Enhancements weitgehend von einer Arbeitsgruppe um Snell und Kaliss erforscht werden. Dort sprach man auch zum erstenmal von immunologischem Enhancement und wies dessen Beziehung zu den Histokompatibilitätsantigenen nach. (83)
Kaliss gelang es, den "enhancing effect" im Serum auf zweite Empfänger zu übertragen. (44)
Snell und Kaliss kennzeichneten immunologisches Enhancement als eine abnorme Immunreaktion, die durch humorale Antikörper hervorgerufen wird. Man ordnet die Antigene in die 7-S-Fraktion der Gammaglobuline ein. (70)
Der Effekt des Enhancements kann, wie oben schon erwähnt, auch durch Antiserum, beziehungsweise Gammaglobulinfraktionen, transferiert werden.
Zur gleichen Zeit, in der Kaliss und Snell ihre ersten Ergebnisse veröffentlichten, erreichten Allen et al. (1) das Enhancement von normalen Gewebetransplantaten, indem sie durch Vorbehandlung

mit spenderspezifischen Hautantigenen die Überlebensdauer von Hauttransplantaten verlängerten.
Brent und Gowland (12) versuchten bei ausgewachsenen Mäusen mit starker Histoinkompatibilitätskombination, durch Gabe von intakten lebenden Spendermilzzellen die Überlebenszeit von Hauttransplantaten zu verlängern, hatten dabei aber nur teilweise guten Erfolg.
Danach veröffentlichten Enomoto et al. (26), Guttmann (33), Halasz (35), Lucas (61), Ockner (79) und Stuart (90) Arbeiten, in denen sie über Versuche berichteten, aktives Enhancement mit intakten spenderspezifischen Zellen zu erzeugen.
Medawar versuchte 1963 (65), die Überlebensdauer von Hauttransplantaten durch Vorbehandlung mit lymphatischem Gewebeextrakt zu verlängern, weil er der Ansicht war, daß lebende Zellen einen sensibilisierenden Effekt auf den Empfänger ausüben würden und zusätzlich eine Graft-versus-Host-Reaktion erzeugen könnten.
Wilson et al. (102) benutzten zur Induktion eines aktiven Enhancement spenderspezifische lösliche und papaininaktivierte Antigene, da ein azelluläres, nicht toxisches, reines und stabiles Antigen, wie sie glaubten, für die klinische Anwendung besser geeignet sei. Schon 1954 fanden Kaliss und Hoecker (45) heraus, daß sich im Serum einer C 57 Bl / 6 Ks-Maus, die mit Tumorextrakt (vom Sarkom I) und Cortison gleichzeitig vorbehandelt worden war, keine Hämagglutinine bei der Reimmunisierung entwickelten, obwohl man bei der zweiten Reimmunisierung nur Antigen verabreichte. Diese hemmende Wirkung persistierte über zwei bis drei Monate. Gab man bei der primären Immunisierung nur Antigen, waren die Hämagglutinine sehr stark gestiegen, obwohl man bei der Reimmunisierung gleichzeitig Cortison gegeben hatte. Es ist anzunehmen, daß diese Persistenz des Inhibitionseffektes durch Cortison nur bei humoraler cytotoxischer Antikörperbildung sowie bei zellgebundener Immunität und nicht bei der Bildung der blockierenden Antikörper auftritt.
Bei Anwendung dieses Verfahrens wäre daher auch die Verlängerung der Überlebensdauer von Organtransplantaten zu erwarten.

1.3.2. Mechanismen und Funktion des immunologischen Enhancements

Snell definiert den Begriff des immunologischen Enhancements 1970 (84) wie folgt: Enhancement ist das verlängerte oder begünstigte Wachstum eines Allotransplantates, verursacht durch die Gegenwart von Alloantikörpern im Transplantat-Empfänger, die gegen die Alloantigene des Spenders gerichtet sind. Es kann aktiv oder passiv sein, hervorgerufen durch

a) die direkte Immunisierung des Empfängers mit Spenderzellen oder
b) durch Übertragung von einem durch Immunisierung eines anderen Individuums gewonnenen Serums auf den Empfänger.

1.3.3. Enhancement hervorrufende Antikörper

Wie oben schon beschrieben, muß, um ein Enhancement zu erzielen, der Empfänger mit Antigenen des Spenders vorbehandelt worden sein. Diese Antigene setzen, sobald sie mit den immunkompetenten Zellen des Empfängers in Berührung gekommen sind, zelluläre und humorale Immunmechanismen in Gang, von denen die humoralen in der Produktion von 19 S und 7 S Antikörpern bestehen.

Möller fand (71) heraus, daß die Antikörper der 19 S Fraktion aber stark cytotoxisch wirken und keinen Anteil an der Enhancement-Induktion haben.
Die 7 S Fraktion-Antikörper erreichen nach ständig steigendem Titer für längere Zeit ein konstantes Level und wirken im Sinne einer Blockierung der Bildung oder Funktion zellulärer Immunität. Das äußert sich darin, daß die transplantatzerstörenden sensibilisierten Lymphozyten als Träger der zellulären Immunität laufend abnehmen, wobei ihre Gipfelaktivität bei drei bis fünf Tagen nach der Immunisierung liegt. (43)
Die immunsuppressive Wirkung der IgG 7 S-Fraktion Antikörper wurde erstmalig von Möller und Wigzell (70) entdeckt. Vier Jahre später gaben Takasugi und Hildemann (94, 95) die Ig γ_2 -Fraktion als den für Enhancement bei der Tumortransplantation verantwortlichen Faktor an.

Aber nicht nur dieser isolierte Faktor ist verantwortlich für das Enhancement, sondern, wie Hutchin (39) schreibt, gerade das Verhältnis zwischen protektiven und zytotoxischen Qualitäten des γ-Globulins ist entscheidend. Dieses wird wiederum durch zahlreiche Variablen bestimmt, wie zum Beispiel der Menge des zur Verfügung stehenden und aktivierbaren Komplements, der Zugänglichkeit der Antigene für die Antikörper oder etwa dem Verhältnis von Antigendichte zu Antikörper. (27, 39)

1.3.4. Aktive und passive Immunisierung

Aktives Enhancement verlangt die Gabe von Antigenen an den Empfänger, was bei diesem zur Folge hat, daß Antikörper produziert werden, die gegen das Spenderorgan gerichtet sind.
Passives Enhancement macht den Transfer von vorbereiteten Antikörpern nötig, die gegen das Spendergewebe spezifisch sind. Diese Antikörper gewinnt man mittels Serum eines von einem anderen gegen die Spenderantigene immunisierten Individuums, wobei es sich um homologes Antiserum handeln muß.
Aktive und passive Immunisierung beziehen sich nicht nur auf Tumortransplantate, sondern auch auf normales Gewebe. Auf die aktive Immunisierung wird später noch genauer eingegangen.
Die passive Immunisierung unterliegt gewissen Wirkungsbedingungen, wie oben schon kurz erwähnt.
Die Menge des übertragenen Serums sollte möglichst groß sein, stellten Dixon et al. schon 1952 fest. (20) Damit deckt sich, daß Wheeler et al. (99) berichteten, daß passiver Antikörper-Transfer nur dann die Überlebenszeit von Hauttransplantaten verlängerte, wenn die Seren an Tieren gewonnen wurden, die durch sehr große Mengen von Antigen immunisiert worden waren. Bei Verwendung von kleinen Mengen zeigte das Passivserum keine Wirkung. (11)
Im Gegensatz dazu behaupteten Boyse et al. (11), große Mengen Antiserum wirken in vitro toxisch auf transplantierte Tumorzellen. Geringe Mengen Antikörper zeigten die umgekehrte Wirkung.

Amos stellte gewissermaßen einen Kompromiß auf, indem er erklärte (2), daß sowohl hohe Dosen als auch niedrige Dosen Antiserum

effektiv für das Enhancement seien (high-dose and low-dose-antiserum).
Kaliss (42) versuchte, den zuerst beschriebenen Effekt durch eine Blockierung der Wirkungszellen zu erklären. Beim "low-dose-antiserum" führte er den Effekt auf eine Feedback-Hemmung der lymphoiden Zellen durch Antigen-Antikörperkomplexe zurück.
"Frühe Seren", das heißt solche, die wenige Tage nach Antigengabe gewonnen werden, weisen einen hohen Gehalt an den cytotoxischen 19 S Antikörpern auf.
Feldmann und Kaliss (27, 42) sind sich darüber einig, daß die Seren, die 50 bis 100 Tage nach Immunisierung gewonnen werden, für das Enhancement verantwortlich sind und die IgG-Antikörper enthalten.

1.3.5. Afferente, centrale und efferente Hemmung

Zelluläre Immunität ist überwiegend für die Abstoßung von Homotransplantaten verantwortlich.
Humorale, gegen das Transplantat gerichtete Antikörper schädigen dieses nicht, sondern bewahren es vor den zerstörenden Einflüssen der zellulären Immunität.
Diese Erklärung wurde zur gleichen Zeit von Snell und von Billingham und seinen Assistenten hervorgebracht. (8, 83)
Der Artikel von Billingham schlägt eine nützliche Unterscheidung zwischen den verschiedenen möglichen Typen der Blockade der zellulären Immunität durch die humorale Immunität und damit des Phänomens des immunologischen Enhancements vor.

a) Die afferente Blockade beginnt mit dem Erscheinen oder der Gabe von immunologischem Material in dem Empfänger und schließt die Vorgänge der Erkennung, Vorbereitung und das Treffen der Antigene mit den immunkompetenten Zellen ein.

b) Die zentrale Blockade betrifft alle Vorgänge der Veränderung des Empfängers und seiner immunkompetenten Zellen bis zu einem Punkt, an dem er fähig ist, spezifisch auf das Antigen zu antworten; so zum Beispiel die Verwandlung von Stammzellen in

solche, die fähig sind, Antikörper zu synthetisieren oder spezifisch und direkt mit dem Antigen zu reagieren.

c) Die efferente Blockade beschreibt die Vorgänge, die in dem bereits immunisierten Empfänger stattfinden, und bezieht sich auf das Phänomen, das mit der Antigen-Antikörper-Reaktion verbunden ist, ebenso mit der Antigen-Zell-Reaktion, der Fixierung von Komplement und so weiter, wie es Feldmann (27) beschreibt. (siehe Figur 1 und 2)

zu a)
Mittels Isotopen- und Fluoreszenstechnik konnte bei in vitro Versuchen festgestellt werden, daß Tumor- und normale Gewebezellen Antikörper binden. (105) Verpflanzte man sie auf allogenische Empfänger, so zeigte sich Enhancement. Auch bei in vivo Versuchen konnte die Aufnahme eines Tierserums im Transplantat nachgewiesen werden. (72)
Erklärt wird dieser Vorgang dadurch, daß, wenn die Transplantationsantigene durch Enhancing-Antikörper bedeckt werden, die zellulären Elemente an deren Erkennung gehindert werden und eine Sensibilisierung somit nicht stattfinden kann.
Feldmann weist aber 1972 (27) darauf hin, daß die Bindung von Antikörpern an Transplantatzellen nicht die Unmöglichkeit des Zugangs zu den immunologischen Zentren für das Antigen beweist.

Eine absolute afferente Blockade setzt eine Nonreaktion des Empfängers voraus, die aber bisher nicht nachgewiesen werden konnte.
Im Gegenteil vertraten Kaliss und Bryant schon 1958 (46) die Auffassung, auf ihren Versuchsergebnissen fußend, daß Enhancement nur dann auftreten kann, wenn der Empfänger zu einer immunologischen Reaktion befähigt ist.

zu b)
Die Theorie der zentralen Blockade geht davon aus, daß Antikörper mit Enhancing-Effekt entweder die Produktion von solchen Antikörpern regulieren oder verhindern, die zur Transplantatabstoßung beitragen, oder von solchen, die Anzahl, Mobilität und

Effektivität der sensibilisierten Lymphozyten, die spezifisch mit den Ziel-Antigenen reagieren und Zerstörung des Transplantates bewirken. Es gibt nach Feldmann keine scharfen Grenzen zwischen den drei Blockade-Theorien, sondern die zentrale Theorie überlappt mit der afferenten und der efferenten Theorie. (27)
Die stärksten Argumente für eine zentrale Theorie wurden von Takasugi und Hildemann (94, 95) angeboten, daß die einer Tumorinokkulation folgende Lymphocytose auch nach der Amputation des tumorbesetzten Schwanzteiles einer Maus nicht zurückging. Wurde jedoch von den Autoren das als immunsuppressiv anerkannte IgG γ_2-Globulin zugeführt, so folgt eine Abnahme der Lymphozytenzahl. Dieser Effekt konnte übrigens nicht mit dem IgM- oder IgG γ_1-Globulin erzielt werden.
Russel berichtete 1971 über Versuche aus seiner eigenen Gruppe, in denen eine Behandlung mit Antiserum bei Hauttransplantattragenden Mäusen eine Abnahme der Größe, des Zellreichtums und der immunologischen Kompetenz der Lymphknoten dieser Tiere zur Folge hatte. (29)

zu c)
Für einen efferenten Mechanismus spricht die Tatsache, daß passiv übertragene Antikörper von Tumortransplantaten noch eine Woche nach der Übertragung hemmen können, obwohl (41) sich bis dahin die zelluläre Abwehr voll entwickelt hat.
Möller (69) bestärkte diese Theorie durch einen Versuch, bei dem er Mäusen beiderseitig homologe Tumorzellen subcutan injizierte. Die Zellen der einen Seite waren vorher in homologem Antiserum inkubiert worden. Der Tumor auf dieser Seite wuchs stark, derjenige der anderen Seite (nicht inkubiert) nur beschränkt. Auch die Tatsache, daß die Zugabe von Antiserum in vitro Äquivalente cellulärer Immunität, das heißt cytotoxische Auswirkungen sensibilisierter Lymphozyten auf kultivierte Zielzellen, in mehreren Versuchsanordnungen hemmt (Brunner (15), Hellström, Sjörgren (37)), spricht für eine efferente Blockade.
Kaliss (43) und McKenzie et al. (63) stellten allerdings die Frage, warum Antikörper, die ein Ersttransplantat fördern sollen,

bei einem wenige Tage später eingepflanzten Zweittransplantat ihre Wirkung verfehlen. Die second-set-reaction ist aus diesem Blickwinkel nicht verständlich. Ebenso kann durch die Theorie der efferenten Blockade nicht erklärt werden, warum auch durch wiederholte Gabe von Antiseren Enhancement und Überlebenszeiten von Transplantaten nicht unbegrenzt verlängert werden kann.
Die Ergebnisse neuester Untersuchungen stellen die periphere Blockierung (afferente und efferente Hemmung) in Frage. Man tendiert eher zum Vorliegen eines zentralen Hemmechanismus (Hellström und Hellström 1974 (37), French und Batchelor 1972 (30)), obwohl Brent und French 1973 (14) das "masking" des efferenten Mechanismus, das heißt das Anlagern der Antikörper an die Transplantatzellen (siehe oben), für nachgewiesen und bedeutend halten.

1.3.6. Möglichkeiten und Bedingungen der Enhancementinduktion

Die aktive Immunisierung mit spenderspezifischen Antigenen kann unter den vielfältigsten Bedingungen, die sich hinsichtlich der Art des Antigens, seiner Darreichungsform, der Dosis und dem Modus der Applikation unterscheiden, erreicht werden.
Zur Verwendung kommen Nieren-, Leber-, Hautextrakte, Ductus-Thoracicus-Lymphozyten, Blutsuspensionen und anderes mehr. Sehr häufig werden auf verschiedene Weise zubereitete Milzextrakte benutzt, die durch ihren hohen Gehalt an antigenen Strukturen zur Auslösung der Immunprozesse besonders geeignet sind. (42)

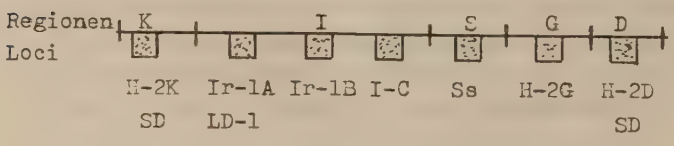
Die Frage, ob bessere Ergebnisse der Enhancementinduktion mit lebenden oder mit abgetöteten Zellen zu erreichen sei, beantwortete Heslop (38), nachdem er die Abstoßungsreaktion nach Immunisierung mit den beiden Zellzustandsarten verglichen hatte, dahingehend, daß die letztere Gruppe der ersteren überlegen sei. Dabei ist es heute allgemein anerkannt, daß die besten Erfolge mit abgetötetem lyophilisiertem oder mit tiefgefrorenem und dann aufgetautem Gewebe zu erzielen sind.
Bei den ersten historischen Versuchen aber wurden 1955 von Billingham und Sparrow mit lebenden Epidermalzellen Kaninchen

immunisiert, wobei eine Verlängerung der Überlebenszeit von Hauttransplantaten eintrat. (9)
Kaliss wies (42) darauf hin, daß die Vorbehandlung mit abgetötetem Antigenmaterial eine stärkere Produktion humoraler Antikörper zur Folge habe, was Hutchin (39) mit möglicherweise neuentdeckten Antigendeterminanten, die im Nativmaterial nicht zugänglich seien, erklärte.
Wir verwendeten bei unseren Versuchen Antigen, das nach der Methode von Brent und Kilshaw (13) hergestellt wurde und auf dessen Zubereitung im folgenden noch näher eingegangen wird.
Die Palette der Möglichkeiten der physikalischen Form des zu verabreichenden Antigens reicht von löslich (Wilson et al.(101)), über halblöslich (Seifert et al. (81)), bis zu unlöslich, wobei auch zahlreiche Zubereitungsarten dazwischen eingeordnet werden müssen.
Lie et al. (53) beantworteten die Frage nach der besten Zustandsform der Antigene nach Rattennierenallotransplantaten, bei Verwendung von lebenden Zellen, halblöslichem Milzantigen und löslichem Antigen, dahingehend, daß lebende Lymphozyten den besten Effekt zeigen würden, während lösliche Antigene am schlechtesten abschnitten.
Mit Spendernierenhomogenat arbeiteten Taguchi et al. (93); Nelson (78) verwendete Milzhomogenat zur Vorbehandlung von Meerschweinchenhauttransplantaten, bei denen vorher zusätzlich eine Milzextirpation durchgeführt worden war.
Schon 1970 gaben Brent und Kilshaw (13) eine Erklärung für den von ihnen verwendeten groben und halblöslichen Milzextrakt: es sollte damit verhindert werden, daß größere Mengen von Antigenstrukturen bei der Extraktion verlorengingen.
Bezüglich des Applikationsmodus des Antigens haben sich hohe Antigendosen, die möglichst fraktioniert präoperativ verabreicht werden, bewährt. (68) Svehag und Mandel (91) nehmen an, daß größere Antigendosen besonders die Produktion der fördernden 7 S Globuline begünstigen. Allerdings wiesen Dresser und Mitchison (21) nach, daß auch kleinste Dosen gereinigten Proteinantigens toleranzinduzierenden Effekt haben.

Der intravenöse und der intraperitoneale Applikationsweg sind die erfolgreichsten Zuführungsmethoden des Immunogens zu den lymphatischen Zentren. (42) (84)
Die Wege der Toleranzinduktion, der anderen Form der spezifischen Immunosuppression, unterscheiden sich von denen zur Erreichung des Enhancements nur geringfügig.
Obwohl Billingham et al. (8) die Toleranz als eine spezifische Schwächung oder Suppression der Reaktivität, ausgelöst durch die Konfrontation eines Versuchstieres mit antigenen Reizen vor der Ausreifung der Fähigkeit zur immunologischen Reaktion definierten, fällt es heute immer schwerer, fußend auf den Forschungsergebnissen von Brent und French (14) und Elkins (25) überhaupt noch eine klare Trennung zwischen den beiden Phänomenen Toleranz und Enhancement zu ziehen.
Der schon geschilderte zentrale Block stellt dann auch eine gemeinsame immunbiologische Instanz zwischen den beiden Phänomenen dar. (Elkins et al. (25))

1.3.7. Spezifität und Wirkungsweise der Enhancement-Antikörper

Über die bisher beschriebenen und bekannten Erklärungen des immunologischen Enhancements hinaus sind in den beiden letzten Jahren Ergebnisse veröffentlicht worden, die vor allem in Identifizierung der Enhancement vermittelnden Antikörper sowie deren Wirkungsweise Fortschritte zeigen. (7)
Die Histokompatibilitätsantigene und die Enhancement-Antikörper sind bisher am gründlichsten bei Mäusen untersucht worden, da es bei diesen Tieren gelungen war, Stämme zu erzeugen, die sich nur im H-2 Komplex bzw. in den einzelnen Regionen des H-2 Komplexes unterscheiden.
Zur Zeit wird der H-2 Komplex der Maus in fünf Regionen unterteilt: K I S G und D



H-2-Komplex der Maus auf Chromosom 17 nach Bach et al.(5)

Loci	D	B	C	A
alte Bezeichnungen	LD-1 MLR-S	SD-2 FOUR	SD-3 AJ	SD-1 LA

HLA-Komplex des Menschen auf Chromosom 6 nach Bach et al.(5)

Die in der K- und G-Region kodierten "klassischen H-2-Antigene" werden auch als SD-Antigene bezeichnet, da sie serologisch definiert sind. Sie kommen auf der Oberfläche aller Zellen vor. Unterschiede in den SD-Antigenen führen zur Bildung von zytotoxischen T-Lymphozyten und damit zur Abstoßung des Transplantates. Beim Menschen werden die SD-Antigene von den HLA-Loci HLA-A, HLA-B und HLA-C kodiert. (5, 92, 100)

Unterschiede in der I-Region führen ebenfalls zur Transplantatabstoßung, so daß von Klein und Hauptfeld (48) das Vorhandensein eines dritten in der I-Region gelegenen H-2-Locus angenommen wird.

Daneben fand man jedoch noch andere Zelloberflächenantigene, die von der I-Region kodiert werden und die sich von den SD-Antigenen funktionell unterscheiden: die LD-Antigene (lymphocyte defined) und die Ia-Antigene (I-region associated). Sie sind bei der Entwicklung der zellulären Immunität ebenfalls von Bedeutung, kommen aber nicht auf allen Zellen vor. Beim Menschen werden die LD-Antigene und die Ia-Antigene vorwiegend vom HLA-D-Locus kodiert.

Die Ia-Antigene sind serologisch nachweisbar durch die Cytotoxizitätstests; sie unterscheiden sich von den SD-Antigenen durch eine andere Verteilung auf den Zellen (vor allem B-Lymphozyten, Makrophagen, Epidermiszellen), ihr Molekulargewicht und ihre Molekularstruktur, wie Klein 1975 zeigte. (47)

Die Funktion der Ia-Antigene ist noch unklar. Einige Autoren (Klein und Hauptfeld) nehmen an, daß die Ia-Antigene und die

LD-Antigene identisch sind. (48)
Ia-Antigene können aber auch auf Produkten der in der I-Region des H-2-Komplexes gelegenen "Immune response" (Ir-Gene) nachgewiesen werden.
Die Produkte der Ir-Gene spielen bei der Regulation der Immunantwort eine Rolle. (48, 74, 3)
Für viele Antigene konnte nachgewiesen werden, daß die Antikörperbildung gegenüber diesen Antigenen der Mitwirkung der T-Lymphozyten bedarf, daß also eine T-Zell-B-Zell Kooperation stattfindet. Munro und Taussig (74) haben über den Ablauf dieses Zusammenwirkens, das bisher am intensivsten mit synthetischen Polypeptiden als Antigenen untersucht worden ist, folgende Vorstellung entwickelt:
Ein von Ir-Genen kodierter spezifischer T-Zell-Receptor geht mit dem Antigen eine Verbindung ein und löst sich als sogenannter T-Zell-Faktor (der Ia-Determinanten trägt) von dem T-Lymphozyten ab.
Dieser T-Zell-Faktor lagert sich dann an einem ebenfalls von Ir-Genen kodiertem B-Zell-Akzeptor an und stimuliert - in Anwesenheit von Antigen - die B-Zelle dazu, sich in eine antikörperproduzierende Plasmazelle umzuwandeln.
Nach Injektion dieser synthetischen Polypeptide antworten bestimmte Mäusestämme je nach H2-Haplotyp mit einer starken Antikörperbildung (high responder), andere Mäusestämme dagegen nur mit einer schwachen (low responder).
Munro und Taussig wiesen nach (74), daß den "low responder" Mäusen entweder der T-Zell-Faktor oder der B-Zell-Akzeptor fehlt.

Die Ia-Antigene haben in ihrer Bedeutung für die Erforschung des Enhancements stark gewonnen, denn man hat in neueren Arbeiten nachgewiesen, daß die SD-Antigene eines Transplantates nur eine schwache Enhancement-Fähigkeit zeigten, während Antiseren der I-Region zu sehr starkem Enhancement führten.
Man könnte daraus schließen, daß Enhancement-Antikörper Ia-Antikörper sind. (18, 19, 85)
Zur Frage nach der Wirkungsweise der Enhancement-Antikörper scheint bisher lediglich klar zu sein, daß sie die Immunantwort hemmen; ob dabei der afferenten, der centralen oder der efferen-

ten Blockade-Theorie die größte Wahrscheinlichkeit beigemessen werden kann, ist immer noch fraglich.
Bach, Davies und Staines et al. (4, 18, 85) halten es für möglich, daß - unter der Voraussetzung, LD-Antigene und Ia-Antigene seien identisch - durch die gegen die Ia-(LD)-Antigene gerichteten Antikörper die Immunantwort verhindert wird.
Damit kann der Widerspruch, daß beim Menschen nach Polytransfusion ein Transplantat einmal beschleunigt und einmal verzögert abgestoßen wird, dahingehend interpretiert werden, daß es im Falle der verzögerten Abstoßung vorwiegend zur Bildung von Ia-Antikörpern, im Falle der beschleunigten Abstoßung vorwiegend zur Bildung von SD-Antikörpern gekommen ist. (5)

Davies et al. nehmen an (19), daß die Enhancement-Antikörper Immunkomplexe mit losgelösten Histokompatibilitätsantigenen bilden. Diese Immunkomplexe lagern sich dann an die Lymphozyten des Wirtes an und verhindern die Reaktion mit dem Antigen.
Andere Autoren vermuten einen Feed-back-Mechanismus durch die Enhancement-Antikörper, also eine Art Autoregulation der Immunantwort durch Antikörper. (96)
Anti-idiotypische Antikörper, mit deren Erzeugung McKearn et al. (62) die Überlebenszeit von Rattennierentransplantaten und Binz und Wigzell von Hauttransplantaten verlängern konnten, sind gegen die Idiotypen, d.h. gegen die antigenbindenden Stellen von Antikörpern einer bestimmten Antigen- und Individualspezifität, gerichtet. Dieselben Idiotypen konnten auf B- und T-Zell-Rezeptoren nachgewiesen werden. (10)
Das bedeutet, daß anti-idiotypische Antikörper nicht nur gegen die antigenbindenden Stellen der Antikörper, sondern auch gegen die Rezeptoren von B- und T-Lymphozyten gerichtet sind, was die Immunreaktion der Lymphozyten auf das Transplantat verhindert. (10) Obwohl noch keine anti-idiotypischen Antikörper in den Enhancement-Antiseren gefunden wurden, konnten Stuart et al. bei Rattennierentransplantaten, nach gleichzeitiger Injektion von Spenderantigen und Enhancement-Antiseren, das spontane Auftreten von anti-idiotypischen Antikörpern in den Versuchstieren nachweisen. (90)

Das könnte heißen, daß anti-idiotypische Antikörper für das Enhancement ausschlaggebend sind.
Abschließend kann gesagt werden, daß die Enhancement-Antikörper an mehreren Stellen in die Entwicklung und Auswirkung der humoralen und zellulären Immunantwort eingreifen.
Dabei zeigt es sich immer mehr, daß das Ausmaß der Immunantwort auf ein Antigen bestimmt wird, sowohl von fördernden ("helper-cells") als auch von hemmenden ("suppressor cells") und daß sowohl B-Zellen auf die zelluläre Antwort als auch T-Zellen auf die humorale Antwort einwirken. (97)
Es ist daher leicht verständlich, daß Enhancement-Antikörper in diesen komplizierten Regelmechanismus "störend" eingreifen können. (7)

1.3.8. Problemstellung

Heute kann die Leber, die durch fatale Erkrankung geschädigt bzw. durch nicht korrigierbare Mißbildung in ihrer Funktion gestört ist, durch ein Fremdorgan ersetzt werden. Das Transplantat ist jedoch durch die genetisch gelenkte immunologische Unverträglichkeit ständig gefährdet. Diese Gefährdung kann durch verschiedene Therapien teilweise oder ganz ausgeschaltet werden.
Da die bisher praktizierten unspezifischen immunsuppressiven Maßnahmen nicht nur die gegen das Transplantat gerichteten immunologischen Prozesse, sondern auch andere Zellproliferationen hemmen,sowie zur generellen Beeinträchtigung der für die Infektabwehr wichtigen Immunvorgänge (Resistenzminderung) führen und zusätzlich tumorfördernde Wirkung haben, sollen durch spezifische Maßnahmen, in unserem Falle durch das sog. immunologische Enhancement von Allotransplantaten als einer adequaten Methode zur Verlängerung der Transplantatüberlebensdauer, die Abstoßungsreaktion des Empfängerorganismus unterbunden werden. Da man zur Nierentransplantation einen lebenden Spender heranziehen kann, ist es in diesem Falle möglich, das spenderspezifische Antigen in der präoperativen Phase zu verabreichen.

In der Kadavertransplantation kann man aber kein spenderspezifisches Antigen verwenden. Deshalb wurde in unseren Experimenten versucht, ein aktives Enhancement der Lebertransplantate bei Hunden mit polyspezifischem, aber nicht spenderspezifischem Antigen zu erreichen.

2. Material und Methoden

2.1. Herstellung des Antigens

Die Herstellung des Antigens erfolgte im wesentlichen nach der Methode von Brent und Kilshaw. (13)
Dabei bewahrten wir die Milzen von Bastard-Hunden nach Auswaschen des Blutes bei -80° C auf.
Die Extraktionsprozedur basierte nach Auftauen der Milzen bei Zimmertemperatur auf einer Methode, die von Medawar beschrieben wurde, sich im Detail aber von ihr unterschied.
Die Milzen wurden mit der Schere zerkleinert und durch ein Stahlsieb gepreßt. Je Gramm Milz wurden 1,4 ml Aqua bidestillata zugegeben und die Mischung in einem Ultra-Turax-Homogenisator (Scientic Co., London) bei 10 000 U/Min für sechs Minuten homogenisiert. Nach Zusatz von 0,1 ml 2 M NaCl-Lösung pro Gramm Milz wurde anschließend für weitere zwei Minuten homogenisiert. Das Homogenisat wurde dann für 15 Minuten bei 3000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde entnommen und mit 0,15 M PBS (pH 7,4) so verdünnt, daß 1 ml einem Milznaßgewicht von 390 mg entsprach. Die pH wurde auf 7,4 angehoben, 14 IE Heparin pro ml Suspension zugesetzt und das fertig zubereitete Antigen bei -80° C aufbewahrt.

2.2. Die Versuchsgruppen

Bei allen Versuchsgruppen wurde auf postoperative immunsuppressive Maßnahmen zur Induktion der Transplantattoleranz verzichtet. Spender- und Empfängertiere waren nicht miteinander verwandt und willkürlich ausgewählt.
Die bei allen Versuchsgruppen in gleicher Weise durchgeführte postoperative Therapie bestand in der Zufuhr von Ringer-Lösung zum Ausgleich des Elektrolythaushaltes vom ersten bis dritten postoperativen Tag, der parenteralen Gabe von 50%iger Glukose-Lösung als Energielieferant sowie von Multivitaminpräparaten.

Zur Infektionsprophylaxe wurden den Hunden die ersten sieben Tage nach der Operation jeweils zweimal 1 Mill. E. Penicillin

pro Tag injiziert.
In einigen Fällen wurden auch postoperative Bluttransfusionen durchgeführt, insbesondere dann, wenn die Hb-Werte und der Hämatokrit erheblich erniedrigt waren.
Die vier Versuchsgruppen unterschieden sich speziell durch folgende präoperative Maßnahmen:

Gruppe 1: In dieser Kontrollgruppe wurde bei siebzehn Hunden keine Vorbehandlung durchgeführt.

Gruppe 2: Fünf Empfänger behandelten wir mit Prednisolon vor. Die Prämedikation bestand in einer Gabe von je 10 mg Prednisolon pro kg Körpergewicht i.v. als Kurzinfusion am fünfzehnten, achten und ersten präoperativem Tage.

Gruppe 3: Sechs Hunde erhielten am fünfzehnten, achten und ersten Tag vor der Transplantation je 2 ml polyspezifisches, halblösliches Milzalloantigen, hergestellt nach der oben beschriebenen Methode, zusammen mit je 10 mg Prednisolon pro kg Körpergewicht i.v. als Kurzinfusion. Das Antigen war aus zwanzig Hundemilzen zubereitet worden. (PSEA 20). Die einzelne verabreichte Menge entsprach einem Milznaßgewicht von 780 mg/kg KG.

Gruppe 4: Vier Hunde wurden nach dem gleichen Schema wie in Gruppe 3 vorbehandelt. Zwei Hunden wurde das Antigen fünf- bzw. sechsmal in wöchentlichen Abständen verabreicht. Bei allen sechs Tieren wurde das gegebene Antigen aber aus siebzig Milzen (PSEA 70) gewonnen.

2.3. Operationsdurchführung

Die Operationstechnik orientierte sich im wesentlichen an der von Starzl et al. (86) aufgezeigten Methode.
Nach Kontrollblutentnahme erfolgte die Narkose durch intravenöse Applikation von Phenobarbitalnatrium (25 - 30 mg/kg KG). Es wurden anschließend 200 ml Ringerlösung schnell infundiert, die weitere Infusion erfolgte in langsamer Tropfenfolge. Unter Zuhilfenahme eines Laryngoskops mit langem geraden Spatel wurde

ein Tubus der Größe 32 orotracheal eingeführt. Das narkotisierte Tier wurde durch ein Bennet-Pulmonat-Gerät beatmet. Vor der Blähung des trachealen Dichtungsballons wurde ein großlumiger Schlauch in den Magen eingeführt. Bei allen Hunden wurde eine allogene orthotope Transplantation der Leber vorgenommen. Zur Durchführung wurden von einem dritten Tier ca. 1500 ml Blut zur Substitution und ein cirka fünf Zentimeter langes Gefäßstück der Vena cava inferior oberhalb der Bifurkation zur Anlegung eines H-Shunts zwischen Vena cava und Vena portae des Empfängertieres entnommen.

Spenderoperation

Das Spendertier wurde mit Fixation der Extremitäten in Hyperextension auf dem Rücken gelagert, das Operationsfeld Thorax und Abdomen bis zur Regio inguinalis wurde rasiert, sorgfältig mit Dibromol(R) desinfiziert und mit Tüchern steril abgedeckt. Zur Vermeidung eines später provozierbaren Out-Flow-Block wurde der Spenderhund im Eisbad bis auf 30° C Ösophagus Temperatur unterkühlt. Dann wurde die Bauchhöhle durch Medianschnitt weit eröffnet, das Operationsfeld durch Bauchdeckenspanner übersichtlich dargestellt, die Vena portae aufgesucht, angeschlungen und weit distal unterbunden. Nach Kanülierung der Pfortader knapp oberhalb der Ligatur wurde die Leber mit zwei Litern 4° C temperierter Perfusionslösung nach Dr. Lie perfundiert. Gleichzeitig erfolgte durch Kanülierung der Aorta die Entblutung des Tieres. Das Blut wurde in ACD Flaschen aufgefangen. Jetzt wurde der Medianschnitt durch Trennung der Pars Costalis Diaphragmae nach kranial erweitert und die Vena cava inferior unterhalb des Herzens abgetrennt. Dann folgte die Darstellung des Ligamentum hepatoduodenale, Durchtrennung des Ductus choledochus und die Präparation der Arteria hepatica, Vena portae und Vena cava inferior weit nach distal, um möglichst lange Gefäßstümpfe zu erhalten, die leberferne Durchtrennung der Gefäße. Anschließend wurde dieses Organ entnommen.

Empfängeroperation

Die Operation erfolgte mit Lagerung, Fixation, Narkose, Infusionsbehandlung, Intubation, Beatmung, Rasur und Desinfektion des Operationsfeldes in gleicher Weise wie beim Spendertier. Die Eröffnung der Bauchhöhle erfolgte durch einen Medianschnitt vom Proc. xiphoideus sterni bis zur Symphyse unter Blutstillung mittels eines Elektrokoagulators und bei größeren Blutungen mittels Ligaturen. Das Operationsfeld wurde mit einem Bauchdeckensperrer dargestellt, die infrahepatische Vena cava inferior und die Vena portae aufgesucht, freipräpariert und eine zwei Zentimeter lange Brücke zwischen beiden Gefäßen kranial der Einmündung der Nierenvenen bzw. in Höhe des Zusammenflusses der Vena lienalis und der Vena mesenterica mittels des vom dritten Hund entnommenen Venenstückes angelegt.
Technisch geschah dies folgendermaßen: Anklemmen der Vena cava inferior mit einer gebogenen Pott-Klemme, Eröffnen des Gefäßes mit einer feinen Schere; Anpassen des vorbereiteten, vom dritten Hunde entnommenen Venenstückes und Verbindung desselben mit der eröffneten Hohlvene durch einfache fortlaufende überwendliche Naht, erst der einen, dann nach Umschlagen des Transplantates auch der anderen Wandseite. Anschließend Abklemmen der Vena portae, Eröffnen des Gefäßes und Verbindung des Shuntstückes mit der Hohlvene mittels intraluminaler, fortlaufender überwendlicher Naht bezüglich der Hinterwand und einfacher überwendlicher fortlaufender Naht bezüglich der Vorderwand. Eröffnen des Porto-Cavalen Shunts durch Abnehmen der Pott-Klemmen. Nach Darstellung des Ligamentum hepatoduodenale wurde der Ductus choledochus aufgesucht, ligiert und durchtrennt. Es folgte die Präparation der Vena portae vom Leberhilus bis zur Bifurkation und der Arteria hepatica vom Leberhilus bis zur Abgangsstelle der Arteria gastroduodenalis. Dann wurde die Vena cava inferior infrahepatisch, möglichst lebernah dargestellt und präpariert, ebenso suprahepatisch, hier mit Unterbindung der Vena Diaphragmatika. Anschließend wurden die Vena jugularis Externa und die Vena femoralis rechtsseitig präpariert und nach Anlegen eines femo-jugularen Bypass (Polyvenyl 3/5 mm).

Verpflanzung der Leber

Die Empfängerleber wurde nach lebernaher Durchtrennung aller Lebergefäße einschließlich der Vena cava inferior entnommen und die Spenderleber transplantiert, indem zuerst die suprahepatische Vena cava inferior, dann die Vena portae mit Freigabe des Pfortaderkreislaufs und anschließend die infrahepatische Vena cava inferior mit Freigabe der Abklemmungen der Systemvenen anastomisiert wurden. Zuletzt erfolgte die Anastomisierung der Arteria hepatika. Technisch erfolgte die Revascularisation durch End- zu End-Anastomisierung mittels einfacher überwendlicher Naht der Gefäße mit atraumatischer Seide. Während der cirka 40 Minuten andauernden anhepatischen Phase wurden den Hunden zur Vermeidung einer metabolischen Acidose jeweils cirka 250 ml 8.3 %ige Na-Bicarbonat-Lösung intravenös verabfolgt.
Außerdem injizierte man pro 500 ml transfundiertem Blut 10 ml Kalziumlösung. Danach wurde der Shunt zweifach hohlvenen- und pfortadernah legiert, durchtrennt und der femorojugulare Bypass entnommen. Die Gallendrainage erfolgte in Form einer Cholecystoduodenostomie. Die Eingeweide wurden mit in Ringerlösung gelöstem Antibiotikum (Amblosin$^{(R)}$) gespült. Nach Anlegen eines Drains im rechten Unterbauch, der zwei Tage belassen wurde, verschloß man das Abdomen zweischichtig.
Extubation des bald erwachenden Tieres erfolgte bei spontanem Auswürgeversuch. Intraoperativ wurden im allgemeinen 300 ml Blut und 1000 ml Ringerlösung, postoperativ ein Multivitaminpräparat und ein Antibiotikum verabreicht. Täglich wurden 100 g Glukose und 1000 ml Flüssigkeit parenteral gegeben.

2.4. Untersuchungsmethoden

a) Gemischte Lymphozyten-Kultur (MLC):
Dieser Test wurde nach der Methode von Bach et al. (3) ausgeführt. Je 15 ml venöses heparinisiertes Blut, das zur Gewinnung der Spender- und Empfängerlymphozyten den Hunden entnommen worden war, wurde in sechs sterile Röhrchen mit jeweils 2 ml physiologischer NaCl-Lösung pro 2 ml Blut gemischt, vorsichtig auf

sechs mit 3 ml Ficoll-Sodiummetrizoat-Lösung gefüllte Gläser geschichtet und bei Zimmertemperatur für 40 min bei 350 g zentrifugiert. Das so gewonnene Lymphozytensediment der sechs Gläser wurde auf zwei Röhrchen verteilt und anschließend die Gläschen mit Hanks-Lösung 3/4 aufgefüllt. Diese Proben wurden bei 350 g 10 min zentrifugiert. Nach diesem Waschvorgang wurden die Zellen wieder in einem Gläschen vereinigt und weitere dreimal in 2 - 3 ml Hanks-Lösung resuspendiert und bei 150 g 10 min zentrifugiert. Die Geschwindigkeit der Zentrifuge wurde bis auf 100 g gedrosselt, um die Lipide und Thrombozyten fraktioniert eleminieren zu können. Nach einem letzten Reinigungsvorgang wurden die Zellen mit einer Pasteurpipette abgehoben und jeweils 3 ml Empfänger- sowie 2 ml Spenderlymphozytensuspension im MLC-Medium aufgenommen, wobei uns als MLC-Medium das Medium RPMI - 1640 mit Zusatz von 1 ml Penicillin/Streptomycin (Gipco Kat-No 514) sowie 1 ml 200 mM L-Glutamin pro 100 ml Medium gemischt mit 20% inaktiviertem, gepooltem Hundenormalserum diente. Das Hundenormalserum wurde dadurch gewonnen, daß eine Serumabnahme von mindestens zehn Hunden über Nacht bei Zimmertemperatur inkubiert, hierauf dreimal 10 min bei 1000 g zentrifugiert und inaktiviert wurde. Nach Mischung des Überstandes und 30minütiger Inkubation bei 56° C wurden die Seren nach sterilem Filtrieren bei -80° C aufbewahrt. Von der Empfängerlymphozytensuspension wurde sodann in der Neubauerkammer die Zellzahl bestimmt und nach Vitalitätskontrolle der Empfängerlymphozyten mit Trypan-Blau (zerstörte und geschädigte Lymphozyten lassen sich mit Trypan-Blau tiefblau anfärben, die erforderliche Mindestvitalität lag bei 95 %) 2 ml dieser Empfängerzellsuspension bei 4° C aufbewahrt, während die verbleibenden 1 ml Empfängerzellen mit 0,062 ml Mitomycin C (= 50 mg) gegeben, hierauf auch die Spenderlymphozyten in der Neubauerkammer ausgezählt wurden.

Diese Spender- und Empfängerzellansätze wurden sodann 30 min bei 37° C im Wasserbad inkubiert, anschließend zur Entfernung des Mitomycin C der oben beschriebene Waschvorgang mit Hanks-Lösung viermal wiederholt. Hierauf wurden sämtliche Ansätze in je 1 ml MLC-Medium aufgenommen, die Zellen gemischt und mit Me-

dium die Zellzahl eingestellt: pro Test benutzten wir je $0{,}5 \times 10^6$ "responding" und "stimulating cells". Nachfolgend untersuchten wir die Empfängerlymphozyten auf ihre Stimulierbarkeit: hierzu wurden die Empfängerzellen mit 0,1 ml Phytohämagglutinin (PHA)-Lösung (Difco Code No 0528) versetzt; die Eigenkontrolle erfolgte mit lebenden E^o und abgetöteten E+ Empfängerlymphozyten, zusätzlich mischten wir die Empfängerzellen mit den abgetöteten Spenderlymphozyten Sp+.
Diese Lymphozytenkultur wurde im CO_2-Brutschrank bei 5 %iger CO_2-Atmosphäre bei 37° C inkubiert. Nach fünftägiger Inkubation wurde die Kultur zur Markierung der Lymphozyten mit 0,05 ml radioaktivem ^3H-Thymidin (2 C/ml) als Indikator versetzt, nach sechzehn- bis zwanzigstündiger erneuter Inkubation der Einbau des radioaktiv-markierten Thymidins durch Zusatz von nicht radioaktivem Thymidin (50 g/ml) geblockt. Die Zellen wurden nun bei 800 g über 10 min abzentrifugiert, über einen Glasfiberfilter mit 35 ml 0,9 %iger, kalter NaCl-Lösung gewaschen, sodann mit 20 ml 54 %iger, kalter TCA-Lösung gefällt und hiernach der Niederschlag mit 20 ml Methanol nachgespült.
Die Glasfilter wurden jetzt über eine Stunde bei 140° C getrocknet. Die Ablesung der Proben nach Zusatz von 10 ml Szintillationsflüssigkeit erfolgte durch Zählung im Alpha-Beta-Counter. Der Index wurde nach untenstehender Formel berechnet:

$$\text{Index} = \frac{E^o + Sp^+ \ (\text{cpm})}{E^o + E^+ \ (\text{cpm})}$$

b) Lymphocytotoxitätstest:
Bei diesem Test hielten wir uns an die von Guttmann beschriebene Methode. (33)
Als Targetzellen dienten Cr^{51}-markierte Lymphknotenzellen des Spenders; als Medium verwendeten wir RPMI - 1640 wie im MLC-Test, ohne Zusatz von Hundenormalserum (der pH-Wert war mit Natriumkarbonat auf 7,2 bis 7,4 eingestellt). Die Lymphknoten präparierten wir bei der Hepatektomie des Spenders aus dem Mesenterium frei und legten sie sofort in Hank'sche-Lösung. Zur Gewinnung der Lymphozyten wurden die Lymphknoten vom Fett befreit, mit der Schere kleingeschnitten und schließlich mit

5 ml Hanks-Lösung im Glas-Homogenisator homogenisiert. Danach wurde der Überstand durch vierfache Gaze filtriert, anschließend der Vorgang wie oben beschrieben wiederholt. Die so entstandene Zellsuspension wurde hierauf mit Hanks-Medium auf 20 - 30 ml aufgefüllt, bei 1000 U/min für 10 min zentrifugiert und hiernach der Überstand abgehoben. Dieser Waschvorgang wurde dreimal durchgeführt. Etwaig in der Suspension vorkommende Lymphozyten wurden mit Tris/NH_4Cl-Lösung hämolysiert. Bei der nachfolgenden Zellaufschwemmung wurde mit Medium RPMI - 1640 die Lymphozytensuspension auf eine Zellzahl von 4-5x10^7 Zellen pro ml eingestellt. Anschließend erfolgte die Zugabe von Cr^{51} als Indikator mit 200 C Cr^{51} pro ml Gesamtvolumen. Die Lymphozytensuspension wurde danach im Schüttelwasserbad bei 37° C fünfundvierzig Minuten lang inkubiert, hierauf der Waschvorgang mit Hanks-Lösung zur Entfernung des überschüssigen Cr^{51}-Indikators dreimal wiederholt. Die Testproben wurden mit 25 l Serum bzw. Serumverdünnung und 25 l Lymphozytensuspension auf Mikrotiterplatten angesetzt (das Serum wurde jeweils vor der Antigengabe sowie vor der Transplantation nach der oben beschriebenen Methode gewonnen). Dieser Ansatz wurde 15 min mit dem Mikroshaker vermischt, 25 min bei Zimmertemperatur inkubiert und anschließend mit 25 l Kaninchenkomplement, das mit Medium RPMI - 1640 verdünnt worden war, versetzt. Dieser fertige Testansatz wurde 5 min mit dem Mikroshaker geschüttelt, 90 min bei 37° C inkubiert und hiernach 20 min lang bei 500 g zentrifugiert. Jetzt wurden 25 l Überstand abgehoben, 1 ml Aqua bidestillata hinzugegeben und im Gamma-Counter 10 min gemessen: die Radioaktivität wurde mit einem Autogamma-Szintillationsspektrometer (Packard) bestimmt. Parallel zu dem Testansatz wurde der Test zur Kontrolle mit gepooltem, inaktiviertem Hundenormalserum, Targetzellen und Komplement durchgeführt. Hierzu wurden die Mikrotiterplatten der Kontrollprobe insgesamt zweimal jeweils 15 min bei 80° C eingefroren und bei 37° C aufgetaut, die Test- und Kontrollwerte sodann parallel bestimmt. Als Antikörperpräsenz wurde die Radioaktivitätsdifferenz zwischen Test- und Kontrollwerten (in % zu "Freezing- und Thawing"-Werten ausgedrückt) berechnet.

c) Hämagglutinationstest:
Bei diesem Testverfahren richteten wir uns nach der Methode von Stimpfling. (88)
Als Targetzellen dienten Spendererythrozyten, die als Suspension in Alsever-Lösung bei 4° C bis zu vierzehn Tage nach der Operation aufbewahrt wurden.
Zur Gewinnung der Erythrozytensuspension wurden 5 ml venöses Blut des Spenders entnommen und, mit Alsever-Lösung versetzt, für 10 min bei 1100 U/min zentrifugiert. Nach Dekantieren von Plasma und Duffy Coat wurde das Blutzellkonzentrat mit 0,85 %iger NaCl-Lösung überschichtet und nach vorsichtigem Mischen 10 min bei 1200 U/min zentrifugiert. Überstand und Duffy Coat wurden wiederum verworfen. Dieser Waschvorgang wurde insgesamt noch dreimal wiederholt, sodann das Erythrozytenkonzentrat mit NaCl-Lösung auf eine 2 - 3 %ige Erythrozytensuspension verdünnt. Zur Gewinnung der Testseren wurde das Hundeserum 30 min lang bei 56° C inaktiviert, danach mit Polyvinylpyrrolidon (PVP; pH = 7,0) eine fortlaufende Verdünnungsreihe hergestellt, bis eine Serumverdünnung von bis zu 2^{15} entstanden war. Die Antikörpertiter wurden aus Test und Kontrollansätzen wie folgt bestimmt:
Die Testproben wurden mit 0,1 ml unverdünntem Serum und 0,1 ml der Seren aus der Verdünnungsreihe angesetzt und allen Proben jeweils 0,05 ml Erythrozytensuspension beigegeben. Diese Ansätze mischten wir einige Sekunden vorsichtig manuell und inkubierten sie zwei Stunden bei Zimmertemperatur. Die Kontrolle wurde mit vier verschiedenen Ansätzen durchgeführt. Die erste Probe erhielt zum Ausschluß einer etwaig eingetretenen Hämolyse oder Eigenagglutination nur 0,15 ml reine Erythrozytenaufschwemmung als negative Kontrolle. In drei weiteren Ansätzen wurden jeweils 0,1 ml Antilymphozytenserum (= ALS, positive Kontrolle), 0,1 ml Polyvinylpyrrolidon (negative Kontrolle) sowie 0,1 ml gepooltes Hundenormalserum (negative Kontrolle) mit 0,05 ml Erythrozytenaufschwemmung versetzt. Auch die Kontrollansätze wurden zwei Stunden bei Zimmertemperatur inkubiert. Hierauf wurden die Ansätze bei 3000 U/min für dreißig Sekunden zentrifugiert, jedes Röhrchen 0,5 ml NaCl-Lösung vorsichtig überschichtet und nach kurzem Aufschütteln der Grad der Agglutination abgelesen.

d) Leukozyten-Migrations-Inhibitions-Faktor (MIF):
Die Bestimmung des MIF erfolgte im wesentlichen nach der Methode von Smith et al. (82) 15 ml Venenblut entnahmen wir in bestimmten Abständen den Empfängern und ließen das heparinisierte Blut mit Zusatz von 2 ml Plasmagel 30 min bei Zimmertemperatur stehen. Sodann wurde der zellreiche Überstand abgehoben und 10 min bei 1000 U/min zentrifugiert, anschließend der Überstand verworfen. Zur Hämolyse der Erythrozyten wurde diesem Zellgemisch 1 ml Tris/NH_4Cl-Lösung (im Verhältnis von neun Teilen 0,83 %iger NH_4Cl-Lösung zu einem Teil 2,06 %iger Tris-Lösung) beigegeben, das ganze kurz gemischt und hierauf die Zellen in zwei Röhrchen gepoolt. Zur Hämolysierung wurden diese bei 37° C im Brutschrank inkubiert und anschließend bei 1000 U/min für 10 min zentrifugiert. Die Zellen wurden dann mit Medium RPMI - 1640, dem 10 %iges gepooltes, inaktiviertes Hundenormalserum zugesetzt war, gewaschen. Mit Medium wurden die Leukozyten auf eine Zellkonzentration von $1x10^8$ Zellen pro ml eingestellt. 0,05 ml dieses Zellgemisches wurden im weiteren Verlauf in Hämatokritröhrchen 5 min bei 2000 U/min zentrifugiert. Wir verwendeten Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 1,1 mm und einer Länge von 75 mm. Nach dem Zentrifugieren wurde das Kapillarstück mit der Zellkonzentration am Boden der Migrationsplatten (MIF-Platten von Greiner Nürtingen) festgeklebt. Die Leukozytenmigration ergab sich aus dem Vergleich von Test und Kontrollansätzen. In den Kontrollproben wurde das Leukozytenkonzentrat mit 0,45 ml Medium, gemischt mit 10 % gepooltem Hundenormalserum überschichtet; in den Testansätzen verwendeten wir nach Lowry 200 g sowie 400 g Protein als Antigen, das aus fetalen Hundelebern hergestellt worden war.
Die Migrationsplatten wurden 20 Stunden bei 37° C im CO_2-Brutschrank inkubiert, daraufhin die Größe der Migrationshöhe bestimmt.
Der Migrationsindex ergab sich aus dem Verhältnis von Test- zu Kontrollansätzen.

e) Allo-Rosettenformationstest (RFT):
Dieser Test wurde nach der Methode von Gluckmann (32) et al. durchgeführt. Die Lymphozyten wurden nach der Methode von Thorsby und Bratlie aus heparinisiertem Empfängerblut isoliert (50 E Heparin/ml). Sie wurden bei 150 g 10 min mit Minimal-Essential-Medium gewaschen und schließlich mit MEM, dem 10 %iges Hundeserum zugesetzt war, auf eine Zellkonzentration von $2x10^6$/ml eingestellt.
Das Sediment des zentrifugierten Empfängerblutes wurde nach Dekantieren von Überstand und "Buffy Coat" dreimal mit PBS (pH 7,4) gewaschen (150 g 10 min) und mit beschriebener MEM-Serum-Mischung eine Erythrozytensuspension mit $2x10^7$ Zellen/ml hergestellt.
10 ml Spendercitratblut wurden bis zu vierzehn Tagen bei 4^o C aufbewahrt. Zur Gewinnung der Spendererythrozyten wurden jeweils 1 ml Citratblut mit 9 ml PBS (pH 7,4) bei 150 g für 10 min zentrifugiert, das Zentrifugat nach Verwerfen des Überstandes und "Buffy Coat" dreimal mit PBS gewaschen und mit obigem MEM-Gemisch auf eine Erythrozytenkonzentration von $2x10^7$ Zellen/ml eingestellt. 0,5 ml der Lymphozytensuspension wurde bei 37^o C eine Stunde inkubiert, mit 0,5 ml Erythrozytensuspension versetzt und anschließend bei 4^o C über Nacht inkubiert. Dann wurde das Sediment vorsichtig aufgeschüttelt und die Rosettenzahl ausgezählt. Als Rosette zählten wir, wenn mehr als zwei Erythrozyten an einem Lymphozyten hafteten. Der Test erfolgte mit Spender-, die Kontrolle mit Empfängerlymphozyten. Alle Tests wurden dreimal mit je einer Kontrolle durchgeführt.
Der Index wurde wie folgt berechnet:

$$\text{Index} = \left(\frac{d}{a}+\frac{e}{a}+\frac{f}{a}+\frac{d}{b}+\frac{e}{b}+\frac{f}{b}+\frac{d}{c}+\frac{e}{c}+\frac{f}{c} \right) \times \frac{1}{9}$$

(a, b, c = Kontrollwerte; d, e, f = Testwerte)

Der MLC-Test wurde vor der ersten Antigenapplikation vorgenommen. Der Lymphozytotoxitätstest erfolgte vor der Antigengabe und am Tage der Transplantation. Der Hämagglutinationstest und der Allorosettenformationstest zusätzlich am dritten, fünften, siebenten, zehnten und vierzehnten postoperativen Tag, während der MIF-Test außerdem noch über den vierzehnten Tag hinaus zweimal wöchentlich durchgeführt wurde.

3. Ergebnisse

a) Überlebensdauer: Tabelle 2

Die Überlebensdauer der Tiere in Gruppe 1 (Kontrollgruppe ohne Vorbehandlung) betrug im Durchschnitt 6,9 ± 1,5 Tage. Todesursache war jeweils die normale Transplantatabstoßung. Interessanterweise überlebten die fünf Hunde der Gruppe 2, die in der oben beschriebenen Weise mit Prednisolon vorbehandelt worden waren, durchschnittlich nur 6,4 ± 1,7 Tage, was trotz der geringen Fallzahl schon auf eine Wirkungslosigkeit alleiniger Prämedikation mit Prednisolon hinweist.

Todesursache war in dieser Gruppe ebenfalls die Abstoßungsreaktion und Funktionsuntüchtigkeit der transplantierten Leber.

Die sechs Tiere der Gruppe 3, die sowohl mit Prednisolon als auch mit dem aus zwanzig Milzen gepoolten, polyspezifischen, halblöslichen Antigen vorbehandelt worden waren, überlebten 7, 9, 9, 11, 12, 13 Tage (10,1 ± 2,0), also signifikant aber nur geringgradig länger als die Tiere der Vergleichsgruppen. Wichtig ist es dabei zu erwähnen, daß der MLC-Index der beiden Hunde, die länger als zwölf Tage überlebten, einen Wert von 6 und 7 zeigte. Bei den anderen vier Tieren lag der MLC-Index zwischen 37 und 58, drei dieser Tiere stießen das Transplantat so auch regelrecht zwischen dem 7. und 9. Tag ab.

Die Überlebenszeiten der Gruppe 4, die ebenfalls mit Prednisolon, aber mit aus siebzig Hundemilzen gepooltem Antigen vorbehandelt worden war, betrugen 1, 7, 8, 14, 22, 27 Tage. Drei dieser Tiere überlebten also länger als zwei Wochen.

Der Empfänger mit der Überlebensdauer von 27 Tagen zeigte am 16. postoperativen Tag den Beginn der Abstoßungsreaktion mit deutlicher Verschlechterung des Allgemeinzustandes am 24. Tag p.o. Ein Tier überlebte neun Tage, bis sich die ersten chronischen Abstoßungsanzeichen zeigten. Es verstarb dann am 14. Tag p.o. an unstillbaren Omentumblutungen.

Ein anderer Hund dieser Gruppe starb am achten postoperativen Tag, wobei sich die Leber bereits während der Operation dunkelrot verfärbte und pathologisch anschwoll, so daß eine hyperakute Abstoßungsreaktion als Todesursache angenommen werden

kann. Das gleiche klinische Bild und damit auch die gleiche Todesursache trat bei den anderen beiden Hunden dieser Gruppe auf, die bereits am ersten bzw. siebenten postoperativen Tage starben.

b) MLC-Befunde:
Die MLC-Indizes lagen zwischen 5 und 107 und sind zusammen mit den Überlebenszeiten in Tabelle 3 dargestellt. Es lag in keinem Fall eine Identität der LD - Loci zwischen Spendern und Empfängern vor.

c) Lymphozytotoxische Antikörper:
Dieser Test konnte in den Gruppen 1 und 2 nicht durchgeführt werden, weil der Spender nach der Organentnahme starb und die Empfänger in keinem der Fälle mit Antigen vorbehandelt worden waren. Die Kontrollwerte für die verbleibenden Gruppen variierten bis hinauf zu 10 %. Immer dann, wenn der Unterschied zwischen Test und Kontrolle weniger als 10 % betrug, wurden diese Werte deshalb als negativ betrachtet.
In Gruppe 3 konnten wir am Tage der Transplantation keine cytotoxischen Antikörper feststellen.
Nur ein Empfänger in dieser Gruppe, der 13 Tage überlebte, wies einen Wert von 15 % auf.
In Gruppe 4 variierten die Werte zwischen 43 % und 67 %, wenn vorher dreimal Antigen verabreicht worden war. Bei den beiden Tieren, die fünf bis sechs Dosen Antigen erhalten hatten, zwischen 27 % und 41 %. Bei den Tieren, die länger als 20 Tage überlebten, lagen die Werte unter 45 %, während bei denen, die noch vor dem 8. Tage starben, der Wert größer war als 66 %.

d) Hämagglutionationstiter:
Die Titer der Gruppen 1 und 2 wurden wiederum nicht bestimmt, und in Gruppe 3 konnten bei keinem der Tiere am Tage der Transplantation Haemagglutinine nachgewiesen werden.
In Gruppe 4 hatten die Tiere, die innerhalb der ersten acht postoperativen Tage verstarben, ohne Unterschied Titer von 1:256 vor der Operation, sehr niedrige Titer (1:4; 1:16) am dritten postoperativen Tage und dann sehr schnell ansteigende

Titer. So hatte eines dieser Tiere schon am fünften Tag post operationem einen Titer von 1:1024 und am siebenten Tag von 1:512. Im Gegensatz dazu lagen die Titer der Hunde, die länger als 14 Tage überlebten, am Tage der Transplantation nur bei 1:16. In allen drei Fällen waren sie am dritten postoperativen Tage total negativ, und obwohl sie dann zwar wieder langsam anstiegen, lagen sie doch erheblich unter den übrigen gemessenen Werten und waren in einem Fall auch am siebenten postoperativen Tage noch nicht nachweisbar.

e) Allorosettenformationstest:
Dieser Test wurde immer in dreifacher Ausfertigung durchgeführt. Von den 288 Tests, die in unserem Labor ausgewertet worden waren, betrug die relative Standardabweichung der drei Werte in 96,9 % aller Fälle weniger als 30 %. Deshalb wurden die Tests immer dann wiederholt, wenn die relative Standardabweichung über 30 % lag. Die Indizes sind in Tabelle 5 dargestellt.
In Gruppe 1 wurde dieser Test bei fünf Tieren durchgeführt. Die Zahl der Rosetten war am dritten Tage nach der Transplantation bemerkenswert angestiegen und hielt sich im Anschluß etwa auf diesem Level.
In Gruppe 2 konnten wir aus technischen Gründen keine Tests durchführen.
Die Rosettenanzahl stieg in Gruppe 3 nach dreimaliger Applikation des halblöslichen Antigens stark an, erreichte am dritten Tag ihren Höhepunkt und blieb dann innerhalb gewisser Streubreiten ziemlich konstant.
Ein ähnliches Bild bietet sich in der Gruppe 4; auch hier liegt der höchste Wert der Rosettenzahl am dritten postoperativen Tage und pendelt sich an den darauffolgenden Tagen wiederum in gewissen Streubreiten um diesen Wert herum ein.
Eindeutige Differenzen zwischen den Tieren, die eine dreimalige Antigengabe, und denen, die fünf bzw. sechs Gaben erhielten, waren nicht feststellbar.

f) Leukozytenmigrationinhibitionsfaktor (MIF): Tabelle 4
In Gruppe 1 wurde die Zellmigration, nachdem sie vorher bei allen Tieren normal war, am dritten postoperativen Tage in zwei von drei Fällen leicht stimuliert, dann aber vor dem Tod der Tiere deutlich vermindert bis auf Werte, die unter 0,8 lagen. In Gruppe 2 konnte der Test aus technischen Gründen nicht durchgeführt werden.
In Gruppe 3, in der nur zwei der sechs Hunde untersucht wurden, war die zelluläre Migration am Tage der Transplantation leicht inhibiert, und auch nach der Operation zeigte sich erst am siebenten Tag eine Stimulation, die dann auch bis zum Tode der Tiere bestehen blieb.
In Gruppe 4 konnte in zwei der sechs Fälle eine Stimulation nach der Antigenvorbehandlung beobachtet werden, während die Migration bei den anderen Tieren zu derselben Zeit normal war.

Nach der Transplantation war bei allen Tieren wieder eine leichte Stimulierung feststellbar, aber in allen Fällen kehrte sie sich vor deren Tod in eine deutliche Inhibierung um.

4. Diskussion

Wie schon in Kapitel 1.3.6. aufgezeigt, genügt eine alleinige Vorbehandlung eines Transplantatempfängers mit löslichem oder halblöslichem Antigen nicht, um ein aktives Enhancement von Hundeleberallotransplantaten zu induzieren und damit die Abstoßung des Fremdorganes zu verhindern.
Frühere Versuche von Lie et al. haben schon gezeigt, daß dieses Ziel nur zu erreichen ist, wenn die präoperativen Antigen-Gaben kombiniert werden mit Prednisolon. (54)
Ebensowenig aber haben Vorbehandlungen mit hohen Dosen von Prednisolon allein bei Ratten- oder Hundenierentransplantaten einen solchen Effekt gezeigt, was auch durch unsere Experimente in der Gruppe 2 bewiesen wurde.
Dadurch kann auch als sicher angesehen werden, daß eine eventuelle Verlängerung der Überlebensdauer bei der oben geschilderten kombinierten Applikationsmethode von Prednisolon und Antigen nicht auf die immunosuppressive Wirkung des Prednisolons zurückgeführt werden kann.
Aus den oben geschilderten Gründen haben wir uns entschlossen, die Vorbehandlung der Empfängertiere in der kombinierten Gabe von eben Prednisolon mit dem polyspezifischen Antigen durchzuführen. Neben der schon erwähnten Kontrollgruppe ohne jegliche Vorbehandlung (Gruppe 1) und der allein mit Prednisolon vorbehandelten Gruppe 2 wurde das Antigen der Gruppe 3 PSEA 20 aus zwanzig verschiedenen Hundemilzen gewonnen und das der Gruppe 4 PSEA 70 aus siebzig Milzen und zusammen mit Prednisolon zur Vorbehandlung verwendet.
Westbroek et al. (98) zeigen in ihren Arbeiten, daß ein DLA-Match bei Bastardhunden vor Nierenallotransplantationen zwar keine Aussagekraft bezüglich der Transplantatüberlebensdauer hat, während das aber bei einer eventuellen Übereinstimmung der LD-Determinanten der Fall ist.
Sowohl Schroeder et al. (80) als auch Westbroek et al. (98) geben an, daß eine Identität der LD-Loci besteht, wenn der MLC-Index kleiner ist als 2-3. Daran gemessen ist keines unserer Spender-Empfänger-Paare LD-identisch. (siehe Tabelle 3)

Interessanterweise zeigte der Hund mit dem kleinsten von uns festgestellten MLC-Index von 5 eine normale Abstoßungsreaktion. Der Schluß liegt deshalb nicht fern, daß Leberallotransplantate bei Bastardhunden unabhängig vom Identitätsgrad der LD-Determinanten abgestoßen werden.
In Gruppe 3 überlebten zwei Hunde mit einem MLC-Index von 6 bzw. 7 länger als zwölf Tage. Man kann daraus schließen, daß die Induktion von aktivem Enhancement mit polyspezifischem halblöslichen Antigen aus zwanzig Milzen durch möglichst identische LD-Determinanten begünstigt wird.
Wahrscheinlich enthält der aus zwanzig Milzen gewonnene Antigenextrakt zu wenig Histokompatibilitätsspezifitäten, um die zwar signifikante Verlängerung der Überlebensdauer auch zeitlich stärker zum Ausdruck bringen zu können.
Bestätigt wird obige These durch den negativen Haemagglutinationstiter und niedrige Lymphocytotoxinwerte vor der Operation.
Wie schon erwähnt, waren die lymphocytotoxischen Antikörper bei drei Tieren der Gruppe 4 am Tage der Transplantation stark erhöht (66 % bzw. 67 %).
In der Tat lag diese Antikörperpräsenz sogar noch höher als nach der Gabe von spenderspezifischem Antigen in früheren Versuchen von Lie et al. (58), wobei allerdings die unterschiedliche Methode der Messung berücksichtigt werden muß. Während ich in meinen Versuchen Cr^{51} markierte Spenderlymphoid-Zellen als Target-Zellen benutzte, bestimmten Lie et al. ihn früher nach der Methode von Mittal et al. (67) Die haemagglutinierenden Antikörper waren in diesen drei Hunden ebenfalls in Titern vorhanden (1:256), die wesentlich höher lagen als die nach Applikation von spenderspezifischen Antigenen in früheren Experimenten vorkamen, dort lagen sie niemals über 1:4 (unveröffentlicht), während in meinen Experimenten der niedrigste Wert bei einem Hund 1:8 betrug.
Bei drei Tieren der Gruppe 4 mit sehr hoher Lymphocytotoxinpräsenz (66 %) und einem ebenfalls sehr hohen Hämagglutinintiter von 1:256 am Tage der Transplantation war eine hyperakute Transplantatabstoßung feststellbar, die der ähnelte, wie sie in Versuchen Lie et al. (56) bei der Leberxenotransplantation im Hund-

Schwein-System schon früher zu beobachten waren.
Wilson et al. (102) zeigten, daß ein erfolgreiches aktives Enhancement von Organtransplantaten nicht erwartet werden kann, wenn ein zu hoher Antikörpertiter vorliegt.
Die hohen Titer beweisen aber, daß aus siebzig Milzen gewonnener Antigenextrakt genügend Histokompatibilitätsspezifitäten der einzelnen Organspender besitzt.
Halasz et al. (35) haben gezeigt, daß sowohl niedrige als auch hohe Dosen Antigen zur Vorbehandlung die Transplantatüberlebensdauer verlängern, während das bei mittleren Dosen nicht die Folge ist, obwohl die mittleren Dosen hohe Antikörpertiter produzieren. Es könnte der Eindruck entstehen, als ob die in unserem Experiment applizierten halblöslichen Antigene in diese mittlere Dosis-Gruppe einzuordnen seien.
Aber im Gegenteil ist es so, daß die Tiere, die in Gruppe 4 länger als 21 Tage überlebten, niedrige Titer am Tage der Transplantation hatten und trotz hoher MLC-Indizes am längsten überlebten. Das bedeutet, daß die Antigen-Dosis in diesem Experiment außerhalb der mittleren Zone liegt.
Deshalb erscheint es wichtig, daß, wenn Empfänger mit polyspezifischem Antigen vorbehandelt werden sollen, niedrige Dosen gegeben werden sollten, um damit die Gefahr zu vermeiden, eventuell eine mittlere Dosis zu geben.
Die Tatsache, daß die Antikörpertiter in Gruppe 4 am Tage der Transplantation höher lagen als am dritten Tage post operationem kann dadurch erklärt werden, daß humorale Anti-Spender-Antikörper durch das Transplantat absorbiert worden sind. Vielleicht führte diese auf der enorm hohen Antikörperpräsenz am Tage der Transplantation beruhende Antigen-Antikörperreaktion auch zu der hyperakuten oder beschleunigt-akuten Abstoßung mit einer maximalen Überlebensdauer der Transplantatempfänger von acht Tagen.

Früher durchgeführte extrakorporale Hämoperfusion mit Pavianlebern (55) zur Behandlung des akuten Leberversagens zeigten uns ebenfalls, daß präformierte humorale Antikörper in dem Patienten gegen das Leberfremdgewebe im Laufe der Hämoperfusion durch die Pavianleber absorbiert wurden.

So waren am Ende einer zwölfstündigen Perfusion weder lymphocytotoxische noch haemagglutinierende Antikörper, die gegen die Pavianzellen gerichtet waren, im Patientenserum nachzuweisen. Das könnte bedeuten, daß die hyperakute Abstoßung von Nierenallotransplantaten durch präoperative Absorption der humoralen Antikörper mit anderen Organen des Spenders, z.B. der Leber, verhindert werden könnte.
Die lange Überlebenszeit der drei Tiere in Gruppe 4 zeigt an, daß es möglich ist, aktives Enhancement mit polyspezifischem Antigen zu erzeugen, und daß das Antigen, das aus siebzig Milzen gepoolt wurde, sich besser dazu eignet als das aus zwanzig Milzen gewonnene. Weiterhin sollte es, um die hyperakute Abstoßung, gekennzeichnet durch die hohen Antikörpertiter, zu verhindern, in niedrigen oder hohen Dosen gegeben werden.
Stephens und Mitarbeiter (87) behandelten die Empfänger von Hundenierenallotransplantaten mit einem Antigen vor, das aus fünfzig Nieren gepoolt worden war. Durch diese Methode wurde die Überlebenszeit der Nieren nicht verlängert, und das bedeutet auf unsere Versuche bezogen, daß entweder die Antigen-Dosis inadequat war, evtl. aber auch, daß aus Nieren gewonnenes Antigen nicht so wirksam ist wie Milzantigen oder daß die Wirkung des polyspezifischen Antigens je nach Organ verschieden ist.

Arbeiten von Eddlestone et al. (22) und Smith et al. (82) zeigen, daß die Leukozytenmigration durch leichte Sensibilisierung mit Antigen stimuliert wird, starke Sensibilisierung dagegen inhibiert die Leukozytenmigration. Aus diesem Grund kann der MIF-Test dazu verwendet werden, einen nicht abstoßungsbedingten Ikterus von einer Transplantatabstoßung zu differenzieren. In den Experimenten war eine Inhibition der Leukozytenmigration zu notieren, im Stadium der fortgeschrittenen Transplantatabstoßung, und es scheint so, als ob dieser Test zusammen mit den biochemischen Befunden dazu geeignet ist, die Abstoßung von Hundeleberallotransplantaten frühzeitig anzuzeigen. Der Inhibition der Leukozytenmigration ging immer ein leichter Anstieg voraus, der auf die Stimulation der Empfängerzellen durch die Antigene des Transplantates zurückzuführen ist.
Nach Applikation des polyspezifischen Antigens zeigten sich die Migrationsraten der verschiedenen Tiere am Tage der Transplanta-

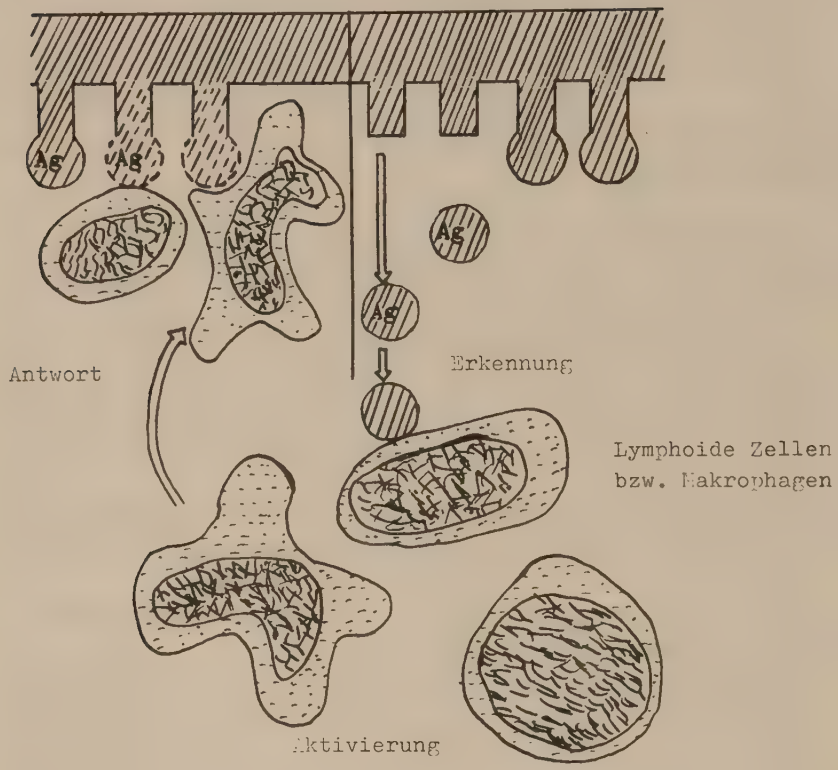
tion nicht gleichartig. Sie waren normal, inhibiert oder auch stimuliert, was wahrscheinlich auf die verschiedenen Reaktionen der Empfängerzellen auf das PSEA zurückzuführen ist.
Die Stimulation bzw. Inhibition der Allo-Rosetten kann als spezifisch angesehen werden. Ich habe den Allo-Rosetten-Formationstest angewendet, um die mögliche zellgebundene Antwort des Empfängers auf die Spenderantigene festzustellen.
Nach drei Antigengaben hatte die Zahl der mit spenderspezifischen Erythrozyten rosettenbildenden Lymphozyten zugenommen und blieb auch nach der Transplantation annähernd konstant.
Das bedeutet, daß das polyspezifische Antigen spenderspezifische Histokompatibilitätsspezifitäten enthielt und daß die rosettenbildenden Lymphozyten der Leberempfänger relativ stark gegen die spenderspezifischen Antigene stimuliert worden waren.
Der Allorosettenformationstest ist jedoch bei Hunden nicht sehr stabil, die Standardabweichung ist mit 30 % hoch verglichen mit der in Ratten gemessenen, die nur bei 20 % lag. Allerdings muß auch berücksichtigt werden, daß die Fähigkeit der Hundelymphozyten zur Allorosettenbildung relativ gering ist. Deshalb mußte ich als Rosetten rechnen, wenn nur zwei Erythrozyten an einem Lymphozyten hafteten. Abhängig von der experimentiellen Situation ist die Allorosettenformation sehr variabel (53), deshalb mußte ich ständig die Kontrolltests parallel mitlaufen lassen.
Die rosettenbildenden Lymphozyten waren bereits nach dem Kontakt mit dem Antigen maximal stimuliert, was in etwa mit der Situation bei den Rattenversuchen übereinstimmt, bei denen Nierentransplantatempfänger am 4. Tage post operationem maximale Stimulation zeigten und dann ebenfalls unverändert blieben.
Das bedeutet, daß die Antigen-erkennenden-Zellen ihre Höchstzahl am dritten bis vierten Tage nach dem Antigenkontakt erreichen, unabhängig von der Dauer der Transplantatüberlebenszeit.
In der sich daran anschließenden Zeit bleibt ihre Zahl konstant, vorausgesetzt das Transplantat wird nicht abgestoßen.

5. Zusammenfassung

Das Ziel der durchgeführten Experimente bestand darin, ein aktives Enhancement bei Hundeleberallotransplantationen mit polyspezifischem halblöslichem Milzantigen, aus zwanzig und siebzig Hundemilzen gepoolt, zu induzieren.
Dazu wurden, abhängig von der jeweiligen Vorbehandlung der Tiere, aus 34 Hundepaaren vier Versuchsgruppen gebildet, bei denen eine Leberallotransplantation durchgeführt wurde.
Die Transplantationstechnik richtete sich im wesentlichen an die von Starzl et al. angegebenen Methode.
Die 17 Tiere der Gruppe 1 wurden zur Kontrolle gar nicht vorbehandelt und überlebten im Durchschnitt 6,9 ± 1,5 Tage.
Fünf Tiere der Gruppe 2 wurden ausschließlich mit 10 mg Prednisolon pro kg Körpergewicht am fünfzehnten, achten und ersten Tag vor der Transplantation vorbehandelt und dienten ebenfalls als Kontrollgruppe. Die durchschnittliche Überlebenszeit dieser Tiere betrug 6,4 ± 1,7 Tage, was trotz der geringen Fallzahl darauf hinweist, daß eine alleinige Vorbehandlung mit Prednisolon keine verlängerte Transplantatüberlebensdauer nach sich zieht.
Die Transplantatempfänger der Gruppe 3 (n=6) erhielten am fünfzehnten, achten und ersten Tage vor der Operation intravenös das aus zwanzig Hundemilzen gepoolte, polyspezifische halblösliche Antigen entsprechend einem Milznaßgewicht von 780 mg mit je 10 mg Prednisolon pro kg Körpergewicht verabreicht. Die durchschnittliche Überlebenszeit dieser Gruppe lag bei 10,1 ± 2,0 Tage. Die Überlebenszeit ist also zur Vergleichsgruppe zwar signifikant, aber nur geringgradig verlängert. Das läßt vermuten, daß der aus zwanzig Milzen gewonnene Milzextrakt keine oder zu wenig Histokompatibilitätsantigene des Spenders enthält.
Die Empfänger der Gruppe 4 wurden wie die Tiere der Gruppe 3 vorbehandelt, mit dem Unterschied, daß das Antigen aus siebzig Milzen gepoolt worden war. Außerdem erhielten zwei der Empfänger dieser Gruppe (n=6) das Antigen fünf- bzw. sechsmal in wöchentlichen Abständen. Die Überlebenszeiten dieser Tiere betru-

gen 1, 7, 8, 14, 22, 27 Tage, waren also mit Ausnahme der ersten drei Tiere, bei denen schon während der Operation Zeichen der hyperakuten Abstoßungsreaktion zu beobachten waren, signifikant verlängert.
Der in allen Fällen durchgeführte MLC-Test ergab in keinem Fall Identität der LD-Determinanten zwischen Spender und Empfänger. Es konnte beobachtet werden, daß die Überlebensdauer der Empfänger besonders in Gruppe 3 umso länger war je niedriger die MLC-Indizes lagen.
In Gruppe 3 zeigten fünf Tiere am Tage der Transplantation keine Lymphocytotoxinpräsenz. Der Empfänger, der mit 13 Tagen in dieser Gruppe am längsten überlebte, zeigte an diesem Tage eine Antikörperpräsenz von 15 %.
In Gruppe 4 schwankte die Antikörperpräsenz am Tage der Transplantation zwischen 27 % und 67 %, wobei die Tiere, die länger als 14 Tage überlebten, Werte unter 45 % aufwiesen, während sie bei denen, die weniger als acht Tage überlebten, über 66 % lagen.
Die Haemagglutinationstiter, die am Operationstag über 1:256 lagen, wurden bei denselben drei Hunden aus Gruppe 4 gefunden, deren Transplantate hyperakut abgestoßen wurden.
Bei den anderen drei Tieren, die über vierzehn Tage lebten, lagen sie zwischen 1:16 und 1:8.
Die RFT-Indizes stiegen in den Gruppen 3 und 4 postoperativ stark an, erreichen am dritten postoperativen Tag ihren Höhepunkt und blieben dann konstant. Bei den festgestellten MIF-Indizes konnte kein eindeutiger Trend festgestellt werden. Übereinstimmend war aber, daß der Index postoperativ leicht anstieg und vor dem Exitus der Tiere wieder abfiel.
Die Erzeugung von aktivem Enhancement mit polyspezifischem halblöslichem Milzantigen in Kombination mit geringen Dosen Prednisolon ist, wie unsere Versuche bestärken, ein gangbarer Weg zur Verlängerung der Überlebensdauer von Lebertransplantaten ohne Immunsuppression. Dabei erwies sich das PSEA 20 als nicht so wirkungsvoll wie das PSEA 70.
Bestätigt wurde außerdem der bekannte synergische Effekt zwischen Antigen und Prednisolon.

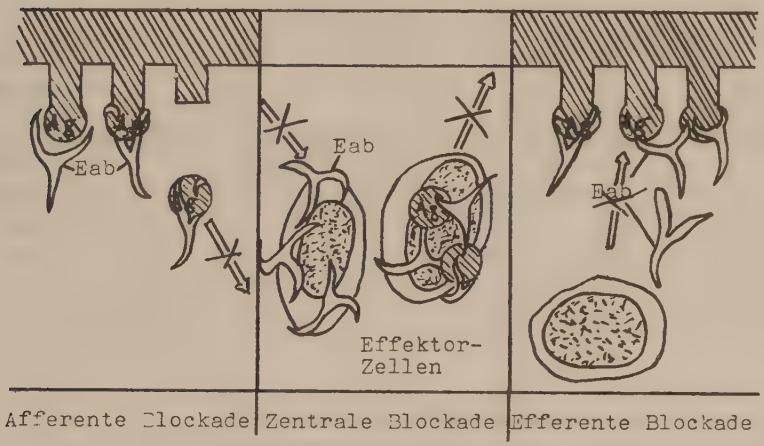
Figur 1
Immunantwort auf Gewebeantigene (27)



Das Antigen (Ag) wird aus dem Gewebe freigesetzt und trifft entweder auf einen Makrophagen, einen potentiell immunkompetenten Lymphozyten oder beides (rechte Seite der Figur). Dieses Ereignis kann in den drainierenden Lymphknoten oder peripher in dem Homotransplantat stattfinden. Auf einem unbekannten Weg aktiviert dieser Kontakt eine Serie von intrazellulären Prozessen, die eine lymphoide Stammzelle in eine solche umwandeln, die fähig ist, Antikörper zu produzieren und/oder die direkt mit dem Antigen reagiert. Die sensibilisierte Zelle kann sich spezifisch an das Anti-

gen binden, das an dem fremden Gewebe klebt, oder sie kann dem Antigen, wenn es aus dem Gewebe heraustritt, entgegentreten. Diese Antigen-Zell-Interaktion setzt eine Vielzahl von Transmittersubstanzen frei, die eine Entzündung und die Infiltration mit Makrophagen und anderen Zelltypen verursachen.

Figur 2
Darstellung der drei Blockade-Theorien (27)



Die afferente Blockade wird durch die Interaktion des Antikörpers (Eab) mit dem Antigen (Ag) verursacht, so daß das Antigen unfähig ist, die immunkompetenten Zellen zu erreichen. Man nimmt an, daß die centrale Blockade stattfindet, wenn Antikörper oder Antigen-Antikörperkomplexe (Eab-Ag) immunkompetente Zellen abdecken und die Aktivierung der immunkompetenten Zellen verhindern, so daß keine weitere Immunreaktion stattfinden kann.
Die efferente Blockade läuft ab, nachdem der Empfänger eine Immunantwort gezeigt hat und immunkompetente Zellen produziert hat. Die letzteren sind unfähig, mit dem Antigen zu reagieren, weil dieses von Antikörpern verdeckt wird.

Tabelle 2

Überlebenszeiten der Transplantatempfänger

Gruppe	Anzahl	Vorbehandlung	Überlebenszeit (Tage)	P
1	17	keine	5,5,5,6,6,6, 7,7,7,7,7,7,7,7 9,10,10 (6,9 ± 1,5)	
2	5	Prednisolon	5,5,6,7,9 (6,4 ± 1,7)	Verglichen mit Gruppe 1 P 0.5
3	6	PSEA 20 Prednisolon	7,9,9,11,12,13 (10,1 ± 2,0)	Verglichen mit Gruppe 1 P 0.01
4	6	PSEA 70 Prednisolon	1,7,8,14,22,27	

PSEA 20 = Antigen aus zwanzig Milzen gewonnen
PSEA 70 = Antigen aus siebzig Milzen gewonnen

Tabelle 3
Zahl der Antigenapplikationen, MLC-Indizes, lymphocytotoxische Antikörper und Hämagglutinintiter
(A = vor der Antigengabe, T = am Tag der Transplantation)

Gruppe	Überlebensdauer	Antigenappl.	MLC-Index	Lymphocytotoxin (in %)		Hämagglutinin-Titer	
				A	T	A	T
	5	-	45	-	-	-	-
	5	-	35	-	-	-	-
1	6	-	107	-	-	-	-
	7	-	5	-	-	-	-
	9	-	25	-	-	-	-
	7	3	53	Ø	Ø	Ø	Ø
	9	3	58	Ø	Ø	Ø	Ø
	9	3	48	Ø	Ø	Ø	Ø
3	11	3	37	Ø	Ø	Ø	Ø
	12	3	7	Ø	Ø	Ø	Ø
	13	3	6	Ø	15	Ø	Ø
	1	3	28	Ø	67	Ø	1:256
	7	3	27	Ø	66	Ø	1:256
4	8	3	13	Ø	67	Ø	1:256
	14	3	48	Ø	43	Ø	1:16
	22	6	32	Ø	41	Ø	Ø
	27	5	71	Ø	27	Ø	1:8

Tabelle 4
MIF-Indizes

Gruppe	Überlebensdauer	vor der Antigengabe	Postoperativer Tag								
			0	3.	5.	7.	10.	14.	17.	21.	24.
1	5	-	0,94	0,86	ND						
	5	-	0,94	1,27	ND						
	6	-	0,94	ND	0,70						
	7	-	0,94	1,24	ND	0,74					
	9	-	0,94	ND	0,92	0,78					
3	11	0,87	0,80	0,92	0,93	1,22	ND				
	13	1,01	0,77	1,22	1,13	1,21	0,98				
4	7	1,05	1,70	0,79	0,97	ND					
	8	0,98	1,50	0,96	0,99	0,78					
	14	1,09	1,06	0,95	1,37	1,02	0,71	ND			
	22	0,89	1,03	1,25	1,25	1,30	1,23	1,07	0,78	ND	
	27	0,94	0,92	1,00	0,96	0,81	1,20	1,17	0,77	0,78	0,77

(ND = nicht durchgeführt)

Tabelle 5 RFT-Indizes

Gruppe	Überlebensdauer	Kontrolle	Postoperativer Tag					
			0	3.	5.	7.	10.	14.
1	5	1,00±0,09	-	1,37±0,24	ND			
	5	1,05±0,00	-	1,62±0,09	ND			
	6	0,89±0,10	-	1,70±0,47	1,53±0,28			
	7	1,00±0,00	-	1,70±0,38	1,73±0,22	1,31±0,16		
	9	1,12±0,14	-	2,21±0,54	1,37±0,18	1,42±0,23		
	($\bar{x}$±SD)	1,01±0,08	-	1,72±0,30	1,54±0,18	1,37±0,08		
3	7	ND	2,12±0,47	1,44±0,42	1,74±0,13	ND		
	9	1,02±0,15	1,61±0,40	1,70±0,40	1,61±0,40	1,08±0,12		
	9	0,96±0,05	2,22±0,72	2,71±0,58	3,11±0,57	1,93±0,45		
	11	ND	1,31±0,26	1,75±0,28	1,30±0,07	1,48±0,19	ND	
	13	0,82±0,24	1,60±0,40	2,22±0,57	1,50±0,30	1,81±0,23	1,84±0,15	
	($\bar{x}$±SD)	0,93±0,10	1,77±0,38	1,96±0,50	1,85±0,72	1,58±0,38	-	
4	7	0,88±0,08	1,62±0,42	1,97±0,16	1,64±0,42	ND		
	8	0,83±0,09	1,27±0,08	1,66±0,20	1,59±0,07	1,56±0,07		
	14	1,14±0,18	1,63±0,27	1,73±0,14	1,72±0,29	1,71±0,18	1,45±0,16	ND
	22	1,02±0,09	1,26±0,12	1,37±0,12	1,45±0,25	1,49±0,19	2,49±0,24	1,64±0,12
	27	1,15±0,15	1,23±0,10	1,65±0,11	1,63±0,10	1,63±0,15	1,22±0,15	2,03±0,26
	($\bar{x}$±SD)	1,00±0,13	1,39±0,18	1,65±0,21	1,57±0,12	1,59±0,09	1,72±0,68	1,83±0,28

(ND = nicht durchgeführt)

Tabelle 6
Postoperativer Verlauf der Haemagglutinationstiter in Gruppe 4

Über-lebens-dauer	vor Antigen-gabe	postoperativer Tag					
		0	3.	5.	7.	10.	14.
1	Ø	1:256					
7	Ø	1:256	1:4	1:32	ND		
8	Ø	1:256	1:16	1:1024	1:512		
14	Ø	1:16	Ø	1:16	1:16	1:256	ND
22	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	1:2	1:2
27	Ø	1:8	Ø	1:8	1:32	Ø	1:64

ND = nicht durchgeführt

7. Literatur

1) Allen, H.L., Williams, R.D., Lovingood, C.G., Ellison, E.H. — The effect of donorskin desensitization and ACTH on survival of skin homografts in rabbits. Ann. Surg. 135, 239, 1952.

2) Amos, D.B. — Presented at American Association for Cancer Research. Atlantic City 1968. zitiert nach Kaliss, N. Immunological enhancement. Int. Rev. Exp. Path. 8, 241, 1969.

3) Bach, M.L., Solliday, S., Stanbeck, M. — Detection of disparity in the mixed leucocyte culture test: Amore rapid essay. Histo. comp. Test. 643, 1970.

4) Bach, F.H., Widmer, M.B., Bach, M.L. — Serologically defined and lymphocyte-defined components of the major histo-compatibility complex in the mouse. J. exp. Med. 136, 1430, 1972.

5) Bach, F.H., Bach, M.L., Sondel, P.M. — Differential function of major histocompa-tibility complex antigens in T-lymphocyte activation. Nature. 259, 273, 1976.

6) Bashford, E., Murray, A., Haaland, B. — Resistance and susceptibility to inoculated cancer. Third Sci. Rep. Cancer. Res. Fund. 359, 1908.

7) Bihl, P., Hermann, G. — Immunologisches Enhancement. Deutsche Medizinische Wochenschrift. 102, 1690, 1977.

8) Billingham, R.E., Brent, L., Medawar, P.B. Enhancement in normal homografts, with a note on its possible mechanism. Transp. Bull. 3, 84, 1956.

9) Billingham, R.E., Sparrow, E.M. The effect of prior intravenous injections of dissociated epidermal cells and blood on the survival of skin homografts in rabbits J. Embryol. Exp. Morph. 3, 265, 1955.

10) Binz, H., Wigzell, H. Shared idiotypic determinants on B and T lymphocytes reactive against the same antigenic determinants. I. Demonstration of similar or identical idiotypes on IgG molecules and T-cell receptors with specificity for the same alloantigen. J. exp. Med. 142, 197, 1975.

11) Boyse, E.A., Old, L.J., Stockert, E. Immunologic enhancement in leukemia. Nature. 194, 1142, 1962.

12) Brent, L., Gowland, G. Induction of tolerance of skin homografts in immunologically competent mice. Nature. 196, 1298, 1962.

13) Brent, L., Kilshaw, P.J. Prolongation of skin allograft survival with spleen extracts and antilympocytic serum. Nature. 229, 898, 1970.

14) Brent, L., French, M.E. Workshop on mechanisms of tolerance and enhancement. Transpl. Proceed. 1, 1001, 1973.

15) Brunner, K.T. et al. Immunpathology, Vth International Symposium. Ed. by P.A. Miescher and P. Grabar, Basel/ Stuttgart Schwabe 1968 p. 342. zitiert bei Floersheim: Transplantationsbiologie. Springer Verlag 1971.

16) Casey, A.E. Specificity on enhancing materials from mammalian tumors. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 31, 663, 1933.

17) Casey, A.E., Ross, G.L., Langston, R.R. Selective XYZ-factor in C 57 black mammary carcinoma EO 771. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 72, 83, 1949.

18) Davies, D.A.L. The true mechanism of immunologic enhancement, deduced from studies of heart transplants in rats. Transpl. Proc. 8, 18, 1976 .

19) Davies, D.A.L., Staines, N.A. A cardinal role for I-region in immunological enhancement, ant the clinical implications. Transpl. Rev. 30, 18, 1976 .

20) Dixon, F.L., Talmage, D.W., Maurer, P.H., Deichmiller, M. The half-life of homologous gamma globulin (antibody) in several species. J. Exp. Med. 96, 313, 1952.

21) Dresser, D.W., Mitchison, N.A. The mechanism of immunological paralysis. Adv. Immunol. 8, 129, 1968.

22) Eddleston , A.L.W.F., Smith, M.G.M., Mitchell, C.G. et al. Application of the leucocyte migration test to the diagnosis of rejection after liver transplantation. Transplantation. 12, 11, 1971.

23) Eder, M., Gedigk, P. (Hrsg.), Fischer, R. Allgemeine Immunologie und Immunpathologie in: Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie. Springer Verlag 1974, 175.

24) Ehrlich, P. Experimentielle Karzinomstudien an Mäusen. Arb. Inst. exp. Ther. Frankfurt. 1, 77, 1906.

25) Elkins, W.L., Hellström, I., Hellström, K.E. Transplantation tolerance and enhancement. Transplantation 1, 38, 1974 .

26) Enomoto, K., Lucas, Z.J. Immunological enhancement of renal allografts in the rat III. Role of the spleen. Transplantation. 15, 8, 1973.

27) Feldman, J.D. Immunologic enhancement of normal tissue grafts. Path. Annu. 7, 19, 1972.

28) Flexner, S., Jobling, J.W. On the promoting influence of heated tumor emulsions on tumor growth. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 4, 156, 1907.

29) Floersheim, G.L. Transplantationsimmunologie. HTB Springer Verlag, Band 89, 1971.

30) French, M.E., Batchelor, J.R. Enhancement of renal allografts in rats and man. Transpl. Rev. 13, 115, 1972.

31) Gabrielsen, A.E., Good, R.A. Chemical suppression of adaptive immunity. Adv. Immunolog. 229, 692, 1967.

32) Gluckman, J.C., Bansal, S.C., Wright, C.W. Inhibition of spontaneous allorosette formation by sera from tolerant rats. Transplantation. 17, 97, 1974.

33) Guttmann, R.D. Renal transplantation in the inbred rat. Transplantation. 15, 594, 1973.

34) Guttmann, R.D. Lindquist, R.R., Kawabe, K., Ockner, S.A. Renal transplantation in the inbred rat. XVII Further observation in the induction of enhancement by active immunization. Transplantation. 13, 15, 1972.

35) Halasz, N.A., Miller, S.H., Romolo, J.L. — Tolerance, enhancement und prolonged survival of organ transplants. Ann. Surg. 176, 538, 1972.

36) Hellström, I., Hellström, K.E. — Lymphocyte mediated cytotoxicity and blocking serum activitiy to tumor antigens. Adv. Immunol. 18, 209, 1974.

37) Hellström, I., Hellström, K.E., Sjörgren, H.O. — Cell. Immunology. 1, 18, 1970. zitiert in Floersheim: Transplantationsbiologie. HTB, Springer Verlag 1971.

38) Heslop, B.F. — Immunological enhancement of skin allografts following pretreatment of the recepients with nonviable allogenic cells. Transplantation 4, 32. 1966.

39) Hutchin, P. — Mechanisms and functions of immunologic enhancement. Surg. Gyn. Obst. 126, 1331, 1968.

40) Jones, J.M., Feldman, J.D. — Reactions in vitro with target cells and subcellular fractions of enriched rat alloantibodies with enhancing activity. Transplantation 12, 144, 1971.

41) Kaliss, N. — Immunological enhancement of tumor homografts in mice. Cancer Research. 18, 992, 1958.

42) Kaliss, N. — Immunological enhancement. Int. Rev. Exp. Path. 8, 241, 1969.

43) Kaliss, N. — Dynamics of immunologic enhancement. Transpl. Proceed. 2, 59, 1970.

44) Kaliss, N., Molomut, N. — The effect of prior injections of tissue antiserum on the survival of cancer homoiografts in mice. Cancer Research. 12, 110, 1952.

45) Kaliss, N., Hoecker, G.F. — Effect of cortisone on isohaemagglutinin production im mice. Transpl. Bull. 1, 149, 1954.

46) Kaliss, N., Bryant, B.F. — Factors determining homograft destruction and immunological enhancement in mice receiving successive tumor inocula. J. Nat. Cancer Inst. 20, 691, 1958.

47) Klein, J. — Biologie of the mouse Histocompatibility-2-Complex. Springer: (Berlin-Heidelberg-New York) 1975.

48) Klein, J., Hauptfeld, V. — Ia antigens. Their serology, molecular relationships, and their role in allograft reactions. Transpl. Rev. 30, 83, 1976.

49) Koumans, R.K.J., Billote, J.B., Burke, J.F. — Complications in prolonged administration of antilymphocytic sera. Transpl. Proceed. 3, 807, 1971.

50) Land, W., Brendel, W., Hopf, U., Seifert, J. — Versuch zur Induktion einer immunologischen Toleranz gegen Pferde-IgG am Menschen. Klin. Wschr. 48, 241, 1970.

51) Levey, R.H. — Influence of antilymphocyte serum on cell-mediated and antibody-mediated responses. Fed. Proceed. 29, 156, 1970.

52) Lie, T.S., Ebata, H., Böhmer, F., Nakano, H., Schmidt, R. — Aktives Enhancement der Rattennieren-allotransplantate. Z. Immun. Forsch. 147, 175, 1974.

53) Lie, T.S., Ebata, H., Holst, A., Nakano, H., Kim, Y.Z.
Der Effekt der spenderspezifischen Antigentypen auf aktives Enhancement der Rattennierenallotransplantate bei histoinkompatibilen Inzucht-Ratten
Deutsch - Bonn.
Res. exp. Med. 165, 175, 1975.

54) Lie, T.S., Ebata, H., Kim, W.I.
Active enhancement of rat kidney allograft. Effect of pretreatment with prednisolon and donor-specific antigen.
Transplantation. 21, 103, 1976.

55) Lie, T.S., Gütgemann, A., Siedeck, M. et al.
Die Behandlung des Coma hepaticum durch extracorporale Perfusion mit Pavian- und Humanlebern sowie mit Aktivkohle.
Chir. Forum 1976.

56) Lie, T.S., Kolloch, R., Frasske, E. et al.
Inhibition of hyperacute rejection in xenogenic liver transplantation from dog to pig.
In: Liver transplantation. edt. by Lie, T.S., and Gütgemann, A.
Witzstrock, Baden-Baden, Brüssel, 289, 1974.

57) Lie, T.S., Nakono, H., Holst, A., Möritz, B.
Aktives Enhancement von Hundenierenallotransplantaten.
Z. Immun. Forsch. (im Druck).

58) Lie, T.S., Nakano, H., Ebata, H., Möritz, B.
Aktives Enhancement von Hundeleberallotransplantaten.
Z. Immun. Forsch. 148, 62, 1974.

59) Lie, T.S., Nakano, H., Bumanowski, W. et. al.
Active enhancement of canine liver allograft Effect of pretreatment with prednisolone and donor-specific antigen.
Surgery. 80, 565, 1976.

60) Little, C.C. Factors influencing the growth of a transplantable tumor in mice. J. Exp. Zool. 31, 307, 1920.

61) Lucas, Z.J., Markley, J., Travis, M. Immunologic enhancement of renal allografts in the rat. I. Dissoziation of graft survival and antibody response. Fed. proc. 29, 2041, 1970.

62) McKearn, Th.J., Finnegan, A., Neu, M.R., Fitch, F.W., Stuart jr., F.P. Suppression of rat renal allograft rejection by antibody against lymphocyte antigen receptors. Surg. Forum. 25, 263, 1974.

63) McKenzie, I.F.C., Koene, R., Winn, H.J. Mechanism of skin enhancement in the mouse. Transpl. Proceed. 3, 711, 1971.

64) Medawar, P.B. The behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits. J. Anat. 78, 176, 1944.

65) Medawar, P.B. The use of antigenic tissue extracts to weaken the immunological reaction against skin homografts in mice. Transplantation I, 21, 1963.

66) Medawar, P.B., Levey, R.H. Nature and mode of action of antilymphocytic antibody. Proc. Nat. Acad. Sci. 56, 1130, 1966.

67) Mittal, K.K., Mickey, M.R., Singal, D.P. et al. Serotyping for homotransplantation. XVII Refinement of microdroplet lymphocyte cytotoxing test. Transplantation 6, 913, 1968.

68) Monaco, A.P., Wood, M.L., Russel, P.S. Preparation of murine transplantation antigens; ultracentrifugal distribution, physical properties, and biological activity. Transplantation 3, 542, 1965.

69) Möller, G. Studies on the mechanisms of immunological enhancement of tumor homografts. III Interaction between hymoral isoantibodies and immune lymphoid cells. J. Nat. Cancer Inst. 30, 1205, 1963.

70) Möller, G., Wigzell, H. Antibody synthesis at the cellular level; antibody induced suppression of 19S and 7S antibody response. J. Exp. Med. 121, 969, 1965.

71) Möller, G. Biological properties of 19S and 7S isoantibodies directed against isoantigens of a H-2 system. J. Immunol. 96, 430, 1966.

72) Morris, R., Lucas, J. Immunological enhancement of rat kidney grafts: evidence for peripheral action of homologous antiserum. Transpl. Proceed.3, 697, 1971.

73) Müller-Buchholz, W. Grundlagen der Transplantationsimmunologie. Dtsch. Med. Wschr. 2, 347, 1971.

74) Munro, A.J. Taussig, M.J. Two genes in the major histocompatibility complex control immune response. Nature. 256, 103, 1975.

75) Murphy, J.B. J. Amer. med. Ass. 62, 199, 1914. zitiert nach Floersheim: Transplantationsbiologie. HTB, Springer Verlag 1971.

76) Murray, J.E., Merill, J.P. Ann. Surg. 148, 343, 1958. zitiert nach Floersheim: Transplantationsbiologie. Springer Verlag 1971.

77) Myburgh, J.A., Smit, J.A. Prolongation of liver allograft survival by donor-specific soluble transplantation antigens and antibody complexes. Transplantation. 19, 64, 1975.

78) Nelson, D.S. Immunological enhancement of skin homografts in guinea pigs. Brit. J. Exp. Path. 43, 2, 1962.

79) Ockner, S.A. Guttmann, R.D., Lundquist, R.R. Renal transplantation in the inbred rats (XIII - XIV) Transplantation. 9, 30, 1970.

80) Schroeder, M.L., Gluckman, E., Storb, R. et al. One way nonstimulating of mixed leucozyte migration after renal transplantation. Brit. Med. J. 4, 275, 1969.

81) Seifert, L.H., Halasz, N.A., Orloff, M.J., Rosenfield, H.A. Antigen-induced prolongation of whole organ allograft survival. Surg. Forum. 17, 278, 1966.

82) Smith, M.G.M., Eddleston , A.C.W.F., Dominguez, J.A. Changes in leucozyte migration after renal transplantation. Brit. Med. J. 4, 275, 1969.

83) Snell, G.D. The enhancing effect (or actively acquired tolerance) and the histocompatibility-2 locus in the mouse. J. nat. Cancer Inst. 15, 665, 1954.

84) Snell, G.D. Immunologic enhancement. Surg. Gyn. Obst. 130, 1109, 1970.

85) Staines, N.A., Guy, K., Davies, D.A.L. — The dominant role of Ia antibodies in the passive enhancement of H-2 incompatible skin grafts. Europ. J. Immunol. 5, 782, (1975).

86) Starzl, T.L., Kaupp, H.A. Brock, D.R. — Reconstructive problems in canine liver homotransplantation with special reference to the postoperative role of hepatic venous flow. Surg. Gyn. Obst. . 111, 733, 1960.

87) Stephens, F.O., Cochrum, K.C., Scott, D.F., Price, D.C., Belzer, F.O. — Attempted Renal Allograft Enhancement by Pooled Kidney Antigen Pretreatment. Ann. Surg. 175, 41, 1972.

88) Stimpfling, J.H. — The use of PVP as a developing agent in mouse haemagglutination test. Transpl. Bull. 27, 109, 1961.

89) Stobbe, H. — Möglichkeiten und Grenzen der immunsuppressiven Behandlung. Allergie und Immunologie. 19, 363, 1973.

90) Stuart, F.P., Saitoh, T., Fitch, F.W., Spargo, B.H. — Immunologic enhancement of renal allografts in the rat. Surgery. 64, 17, 1968.

91) Svehag, S.E., Mandel, B. — The formation and properties of poliovirus neutralizing antibody - I. 19S and 7S antibody formation; differences in kinetics and antigen dose requirement for induction. J. Exp. Med. 119, 1, 1964.

92) Svejgaard, A., Hange, M., Jersild, C., Platz, P., Ryder, L.P., Staub Nielsen, L., Thomsen, M.
The HL-A System.
Karger: Basel - New York 1975.

93) Taguchi, J., Mackinnon, K.J., Dossetor, J.B.
Renal allograft modification by donor antigen in the rat: evidence for significance of this principle in man.
In: Advances in transplantation.
Williams and Wilkins, Baltimore. 363, 1968.

94) Takasugi, M., Hildemann, W.H.
Regulation of immunity toward allogenic tumors in mice. 1. Effect of antiserum fractions on tumor growth.
J. Nat. Cancer Inst. 43, 843, 1969.

95) Takasugi, M., Hildemann, W.H.
Regulation of immunity toward allogenic tumors in mice. 2. Effect of antiserum fractions on cellular and humoral response.
J. Nat. Cancer Inst. 43, 857, 1969.

96) Uhr, J.W., Möller, G.
Regulatory effect of antibody on the immune response.
Advanc. Immunol. 8, 81, 1968.

97) Weigle, W.O.
Cyclical production of antibody as a regulatory mechanism in the immune response.
Advanc. Immunol. 21, 87, 1975.

98) Westbroek, D.L., Viresendrop, H.M., van den Tweel, J.G.
Influence of SD and LD matching on kidney allograft survival in unrelated dogs.
Transpl. Proc. 7, 427, 1975.

99) Wheeler, H.B., de Fronzo, A., Corson, J.M. Prolonged skin allograft survival after treatment of the host with low dosis of the donor strain histocompatibility antigens. Transplantation 9, 78, 197o.

100) WHO-IUIS Terminology Committee Nomenclature for Factors of the HL-A-System. Transplantation 8, 1o9, 1976.

101) Wilson, R.E. Active or passive enhancement and allograft survival. Transpl. Proc. 4, 513, 1972.

102) Wilson, R.E., Maggs, P.R., Vanwijck, R., Shaipanich, T., Hollen-Allen, R.T., Lukl, P., Simonian, S.J. Active enhancement of renal allograft in dog and rat by subcellular antigen. Transpl. Proc. 3, 705, 1971.

103) Woodruff, M.F.A., Anderson, J.M. The effect of lymphocyte depletion by thoracic duct fistula and administration of antilymphocytic serum on the survival of skin homografts in rats. Ann. N.Y. Acad. Sci. 120, 119, 1964.

104) Woodruff, M.F.A. Antilymphocyte serum as an immunsuppressive agent. Seiffert, K.E. und Geißendörfer, R.: Transplantation von Organen und Geweben. Thieme. 93, 1967.

105) Zimmermann, B., Feldmann, J.D. Enhancing antibody. III Site of activity. J. Immun. 104, 626, 1970.

Ich danke Herrn Professor Dr. T.S. Lie für die freundliche Überlassung des Themas und für die Unterstützung bei der Durchführung und Auswertung der Versuche.

Lebenslauf

Am 14. Juni 1953 wurde ich, Klaus Stechert, als Sohn des technischen Angestellten Helmut Stechert und seiner Ehefrau Hildegardt in Dormagen geboren.
Ich habe einen älteren Bruder und eine jüngere Schwester.
Mein Schulbesuch dauerte von 1959 bis 1971. Im Juni 1971 machte ich am Staatl.-Quirinus-Gymnasium in Neuss mein Abitur.
Im Wintersemester 1971/72 war ich in Köln in der juristischen Fakultät eingeschrieben.
Im Sommer 1972 nahm ich mein zahnmedizinisches Studium in Bonn auf.
Nachdem ich dort meine naturwissenschaftliche Vorprüfung und meine zahnärztliche Vorprüfung bestanden hatte, begann ich im Sommer 1975 mit den Versuchen zu meiner Dissertationsarbeit bei Prof. Lie aus der Abteilung für Transplantationsimmunologie der Universität in Bonn.
Am 15. Juli 1977 habe ich mein zahnmedizinisches Staatsexamen in Bonn abgelegt.
Seit dem 17. November 1977 bin ich mit der Diplom-Trophologin Rita Ahrens verheiratet; wir haben einen Sohn.
Ich arbeite zur Zeit als Ausbildungsassistent bei Dr. med dent Fj. Ahrens in Dormagen.